THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir le Titre de Docteur de l'Université
(Mention Sciences)

par

ALBERTO JURADO SOLER

1ère Thèse: "Contribution à l'étude de la structure et du dosage des polyaldéhydes formés au cours de l'oxydation periodique de quelques osides".

2ème Thèse: Propositions donneés par la Faculté.

Soutenues le 21 décembre 1962 devant la Commissicn d'examen.

MM. QUELET: Président.
PIAUX: Examinateurs.
ACHER: Examinateurs.
COURTOIS: (Invité).

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir le Titre de Docteur de l'Université

(Mention Sciences)

par

ALBERTO JURADO SOLER

1ère Thèse: "Contribution à l'étude de la structure et du dosage des polyaldéhydes formés au cours de l'oxydation periodique de quelques osides".

2ème Thèse: Propositions donneés par la Faculté.

Soutenues le 21 décembre 1962 devant la Commission d'examen.

MM. QUELET: Président.
PIAUX: Examinateurs.
ACHER: Examinateurs.
COURTOIS: (Invité).

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK
-LEIDEN-

(Janvier 1962)

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

— PROFESSEURS —

Doyen..... M. ZAMANSKY.

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure
DE BROGLIE	T	Théories physiques
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées
PERES	T	Mécanique des fluides et applications
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
CHAUDRON	T	Chimie appliquée
WYART	T	Minéralogie et Cristal
TEISSIER	T	Zoologie
MANGENOT	T	Biologie Vég. (Orsay)
AUGER	T	Physique quantique et Relativité
MONNIER	T	Physiologie Générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T	Chimie générale
FAVARD	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du Globe
Mle COUSIN	T	Biologie Animale (SPCN)
CHRETIEN	T	Chimie minérale
DRACH	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T	Génétique
RIVIERE	T	Géologie SPCN et sédim.
GAUTHERET	T	Biologie Vég. (P.C.B.)
LUCAS R.	T	Recherches Physiques
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire
ARNULF	T	Optique appliquée
MORAND	T	Physique Enseignement
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)
FORTIER	T	Mécanique exp. des Fluides
DANJON	T	Astronomie
PETIT	T	Biologie maritime
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie Végétale (SPCN)
Mle CAUCHOIS	T	Chimie Physique
THELLIER	T	Physique du Globe
L'HERITIER	T	Biologie Générale (Orsay)
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay)
PONCIN	T	Mécanique Générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des Nombres
QUELET	T	Chimie Organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Pétrographie
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et struc.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay)
VASSY	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T	Théories Physiques
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie et Cristallog.
J. P. MATHIEU	T	Physique (Optique)
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)
MAY	T	Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie
FELDMANN	T	Biologie Végétale marine
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay)
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique
SCHWARTZ	T	Calcul diff. et Intégral
CHOUARD	T	Physiologie Végétale
MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéronaut.)
BRELOT	T	Calcul diff. et intégral
NORMANT	T	Synthèse organique générale
BENARD	T	Chimie Minérale
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T	Statistiques Mathématiques
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie Végétale
MARECHAL	T	Optique théorique et Appl.
KIRRMANN	T	Théories Chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mle LE BRETON	T	Physiologie de la nutri.
SALEM	T	Mathématiques générales
LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie Comp.
EHRESMANN	T	Topologie Algébrique
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynamique
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T	Tech. Mathém. de la Phys.
ROCH	T	Géologie
SCHATZMAN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Paléontologie stratig.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
RIZET	T	Génétique (Orsay)
ROUTHIER	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Physique Théorique
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechnique géné
BRUSSET	T	Chimie systématique
M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
Mme CHAIX	T	Chimie biologique
Mme HUREL-PY		Biologie Végétale (PCB)
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.)
BRUN	T	Mécan. Théorique des Fluides
LEDERER	T	Chimie biologique
Mme DUBREIL	T	Mathématiques (E.N.S.)
Mme LELONG	T	Mathém. (Agrégation)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T	Physique électricité
DUBOIS J. E.	T	Chimie organique
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)
MICHEL A.	T	Chimie Minérale (Orsay)
OLMER	T	Energétique générale
ROUAULT	T	Electricité (Orsay)
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie Physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER		Physiologie comparée
CAMUS		Physiologie Vég. BMPV
CASTAING	T	Physique (Orsay)
CURIEN	T	Minéralo. et Cristallog.
MOYSE	T	Physiologie Végé. (Orsay)
NOIROT		Evolution des Etres Org.
PANNETIER	T	Chimie générale (Orsay)

POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN	T	Chimie théorique
TEILLAC	T	Physique Nucl. et Radioactivité
TONNELAT	T	Biologie Physico-chim.
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART		Chimie (P.C.B.)
DODE	T	Chimie (Orsay)
FREYMANN	T	Recherches Physiques
GUINOCHET	T	Biol. Vég. SPCN (Orsay)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)
Mle JOSIEN	T	Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
ARNOULT	T	Electronique (Orsay)
CHAPELLE	T	Physique (Orsay)
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay)
DENY	T	Mathématiques Géné. Orsay
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides
LUCAS G.	T	Géologie
ALLARD	T	Chimie Physique
BERTHELOT	T	Phys. Fondamentale des Hautes Energies (Orsay)
BRICART	T	Météorologie et phys. de l'Atmosphère
Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie
FRIEDEL		Physique des Solides (Ors)
M. JULIA		Etudes des Moléculaires naturelles complexes
LENDER	T	Biol. Animale (SPCN) Orsay
MAGAT		Physico-chimie des radioéléments
Melle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
BENOIT	T	Physiol. Anim. (Orsay)
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
HAISSINSKY	T	Radiochimie
LEMEE	T	Physiol. Vég. BMPV (Orsay)
GUERIN	T	Chimie M.P.C. (Orsay)
CHATELET M.		Chimie (P.C.B.)
JEAN	T	Physique Nucléaire (Orsay)
MATTLER	T	Physique S.P.C.N.
MICHEL L.		Phys. Théor. des Htes Enérgies (Orsay)
BERGERARD		Zoologie (Orsay)
BERTEIN		Electronique (Orsay)
BOUISSIERES		Chimie des Radioéléments (Orsay)
Mme COUTURE		Thermodynamique et Méc. Physique
ELLENBERGER		Géologie appli. s/le terr.
FRANC		Biol. Animale (P.C.B.)
SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay)
STOLKOWSKI		Physiologie générale
ACHER		Chimie Biol. (Orsay)
BAUDOIN		Biologie animale P.C.B.
BEAUMONT		Biologie animale SPCN
BLAMONT		Géophysique Ionosphère
BOURREAU		Botanique
CURIE D.		Physique (M.G.P.)
DURAND-DELGA		Géologie
FREON	T	Chimie organique (Orsay)
HELLER		Physiologie végétale
TORTRAT		Calcul des Probabilités
CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.)
DAUDEL	T	Mecanique ondulatorie appl. à la chim. Théor. et à la Phys. Nucléaire
Mle FOURCROY		Biol. Végétale (SPCN)
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Méc. Analytique et Méc. céleste
Mle VEIL		Physiologie Générale
LWOFF	T	Microbiologie
SIESTRUNCK	T	Mécan. Phys. et Expérim.
LACOMBE	T	Métallur. des métaux Nucl.
BROCHARD	T	Physique P.C.B. (Orsay)
CABANNES	T	Mécanique générale
LESIEUR	T	Mathématiques MPC (Orsay)
MAZET	T	Mécanique générale (Orsay)
CAIRE		Géographie phys. et Géol. Dynamique
COMOLET		Mécanique des Fluides
CORABOEUF		Physiologie Animale
DELLOUE		Physique de l'exosphère
GORENFLOT		Botanique II (Orsay)
HOUILLON		Biologie Animale P.C.B.
JULLIEN J.		Chimie P.C.B.
MALGRANGE		Tech. Math. de la Phys.
OLIVIER		Antropologie
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)
BLANC-LAPIERRE		Physique ENS. (Orsay)

SECRETAIRE GENERAL..... R. POULLAIN.

A Monsieur le Professeur R. QUELET
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

Qui a bien voulu accepter le patronage de ce travail
et présider notre Jury de Thèse.
Hommage et profond respect.

A Monsieur le Professeur L. PIAUX
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

Qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.
Très respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur R. ACHER
Maitre de conférences à la Faculté des Sciences de Paris

Qui a bien voulu faire partie de notre Jury de Thèse
En hommage de ma respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur J.E. COURTOIS
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

Qui nous a confié ce travail et en a toujours suivi la réalisation avec beaucoup d'intérêt et de bienveillance.

En témoignage de toute notre reconnaissance et de notre respectueux attachement.

A Monsieur le Professeur P. MALANGEAU
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien en Chef des hôpitaux psychiatriques de la Seine

Qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous a constamment dirigé au cours de nos recherches.

Hommage de très profond respect
et d'entier dévouement.

A Monsieur le Professeur J. PASCUAL VILA
Professeur à la Faculté des Sciences de Barcelone

Qui nous a encouragé à venir réaliser
ce travail en France et a toujours suivi
nos recherches avec intérêt.

Hommage de vive et respectueuse gratitude.

A monsieur le Professeur C. COLIN
Attaché culturel de l'Ambassade de France en Espagne

Qui a bien voulu nous accorder une bourse ce qui a rendu possible la réalisation de ce travail.

En témoignage de sincère reconnaissance.

Avant d'exposer ce travail, qu'il nous soit permis ici, d'exprimer à Monsieur BOURDON, Maître de conférences, Pharmacien des Hôpitaux de Paris, qui nous a donné de multiples témoignages de sympathie pendant notre séjour au laboratoire et qui nous a toujours fait profiter de sa grande expérience et de ses conseils avisés, notre respectueuse reconnaissance.

Monsieur M. GUERNET, Pharmacien des Hôpitaux de Paris, Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris, nous a apporté en bien de cas, tout le soutien dont nous pouvions avoir besoin qu'il veuille bien accepter toute notre reconnaissance, à laquelle s'ajoutent des liens de profonde amitié qui ont pris naissance au cours de ce travail.

Mes collègues de laboratoire, que tous veuillent bien trouver ici l'expression de toute notre gratitude.

Les spectres I.R. ont été réalisés dans le service de Monsieur le Professeur J. GUY, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris, à qui nous adressons nos respectueux remerciements.

GENERALITES

A la température ordinaire, l'acide periodique se comporte comme un oxydant très sélectif, MALAPRADE (51), FLEURY et LANGE (19); il rompt de préférence et presque exclusivement les fonctions α-glycol.

Les aldoses sont oxydés par l'acide periodique comme s'ils réagissaient sous leur forme linéaire; la fonction alcool primaire est deshydrogénée en formaldéhyde, les fonctions alcool secondaire et aldéhyde sont oxydées en acide formique, selon la réaction suivante :

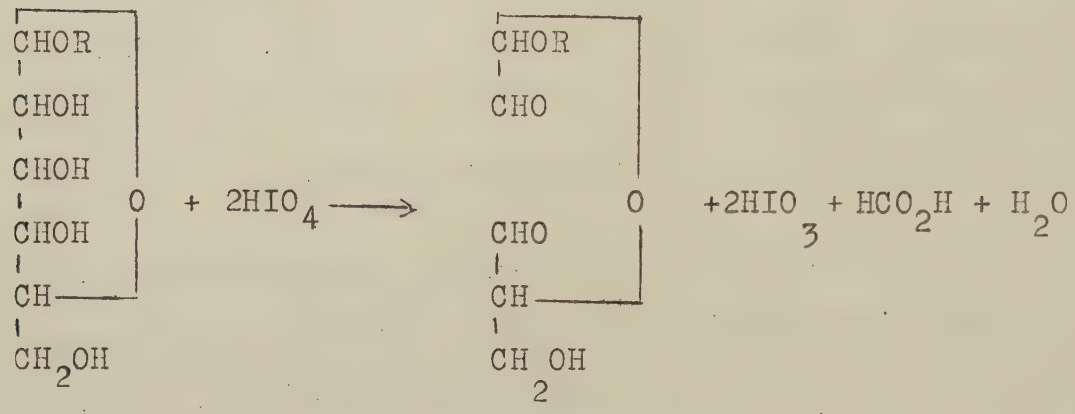
$$CH_2OH-(CHOH)_n-CHO+(n+1)HIO_4 \longrightarrow HCHO+(n+1)HCO_2H+(n+1)HIO_3$$

L'oxydation des cétoses est plus irrégulière, elle donne naissance à du formaldéhyde, de l'acide formique, et de petites quantités d'acide glycolique et d'anydride carbonique, FLEURY et LANGE (19), HERISSEY, FLEURY et JOLY (38) KHOUVINE et ARRAGON (45).

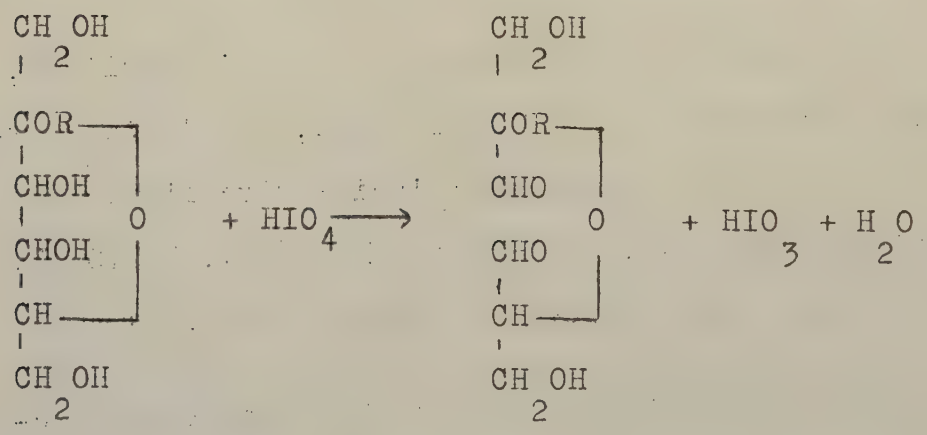
Les pyranosides et furanosides ont leur fonction réductrice bloquée par un alcool (osidification) : le cycle pyranique ou furanique du sucre en est stabilisé et seules les fonctions α-glycol peuvent s'oxyder. Il se forme alors des dialdéhydes à pont oxydique, HERISSEY, FLEURY et JOLY (38) qui ont été préparés par JACKSON et HUDSON (42).

Il est alors possible de représenter l'oxydation d'un pyranoside (1) et d'un furanoside (2), par les schémas suivants :

(1)



(2)



R représente un radical alcoolique ou phénolique non oxydable par l'acide périodique

L'oxydation periodique des oligasides non réducteurs, a été également étudiée par JACKSON et HUDSON (42), FLEURY et COURTOIS (21); on peut considérer que chacun des

cycles pyranique ou furanique constituant la molécule d'oligoside, réagit comme s'il était indépendant, selon les schémas présentés ci-dessus (R représentant alors un reste glucidique).

Dans le cas des oligosides réducteurs, l'ose dont le groupement réducteur est libre, est oxydé, comme s'il réagissait sous forme linéaire, tandis que les oses dont les groupements réducteurs sont impliqués dans les liaisons osidiques sont oxydés comme les pyranosides et furanosides correspondants.

Chez les polysaccharides, on trouve les deux types d'oxydation envisagés séparément pour les oligosides réducteurs et non réducteurs.

Dans ce travail, nous avons tenté de préparer, à l'état cristallisé, par oxydation periodique de divers osides, les polyaldéhydes correspondants.

Jusqu'ici, deux procédés de préparation avaient été utilisés : élimination de l'acide periodique en excès et de l'acide iodique formé, par précipitation sous forme de leurs sels de baryum, ou élimination de ces deux acides par chromatographie sur résine échangeuse d'ions.

Nous avons repris d'un point de vue critique ces deux protocoles opératoires, car nous avons estimé que les difficultés rencontrées lors des essais en vue de cristalliser ces produits sont essentiellement liées à la dési-

onisation imparfaite des solutions mère.

Nous avons alors mis au point un protocole de préparation et nous avons réussi à obtenir ces produits à l'état cristallin.

Les nombreux travaux effectués depuis une quinzaine d'années en vue de déterminer la structure de ces polyaldéhydes conduisent à des interprétations différentes suivant les auteurs. Nous avons entrepris une nouvelle étude, s'appuyant en particulier sur l'examen des spectres Infra-rouges de ces composés.

Devant les difficultés de dosage de ces corps par les méthodes classiques de titrage des aldéhydes, nous avons mis au point une réaction colorée spécifique, utilisant la β-naphtylamine et le thymol.

- : -

1ère PARTIE

==========

OBTENTION DES OLIGOSIDES

METHODES DE PREPARATION, PURIFICATION ET D'ANALYSE.

- : -

INTRODUCTION

- : -

Avant d'entreprendre l'étude du mode de préparation des polyaldéhydes, leur structure et leur dosage sélectif, il est nécessaire de décrire les procédés généraux qui nous ont permis d'obtenir et de vérifier la pureté des matières premières utilisées.

Nous envisagerons successivement la préparation de quelques oligosides. Nous exposerons ensuite les techniques qualitatives ayant trait en particulier à la chromatographie sur papier et sur résines échangeuses d'ions, et les techniques quantitatives classiques de dosage d'acide periodique et des principaux composés libérés par action de celui-ci sur les osides.

- : -

CHAPITRE n° 1

- : -

PREPARATION DES OSIDES

Les produits utilisés sont, soit des échantillons commerciaux dont la pureté est vérifiée (pouvoir rotatoire, chromatographie sur papier) ou des produits préparés par nos soins.

a/ Préparation de l'α-méthyl-D-glucopyranoside

La technique utilisée est voisine de celle qui a été décrite par RAYMOND et SCHROEDER (60)

Le chauffage à reflux d'une solution méthanolique concentrée d'un ose en présence d'une petite quantité d'acide chlorhydrique fournit l'α- et le β-méthyloside correspondant.

La séparation des deux isomères est effectuée par cristallisation en l'absence ou en présence d'acétate de potassium.

Une partie (500 g) d'α-D-glucose anhydre est mélangée à deux parties (1.000 g) de méthanol contenant 3% d'acide chlorhydrique gazeux. Après chauffage à reflux pendant environ 8 heures, le mélange est décoloré par addition d'environ 10 g de charbon végétal.

L'ébullition est maintenue pendant 15 minutes après cette addition, et la solution est filtrée chaude. Par séjour de 24 heures au voisinage de 0°, il se forme un précéipité qui est constitué par de l'α-méthyl-D-glucopyranoside souillé de glucose n'ayant pas réagi.

Ces cristaux, recueillis par filtration sur verre fritté, sont lavés avec de petites portions de méthanol glacé, puis séchés. La recristallisation est effectuée dans le méthanol bouillant.

Le filtrat est conservé; il sert à préparer le β -méthyl-D-glucopyranoside.

La pureté du produit est vérifiée par chromatographie sur papier et par oxydation periodique, dosage de l'acide periodique consommé, de l'acide formique libéré, et vérification de l'absence de formaldéhyde après action d'un excès d'acide periodique sur une quantité connue du produit à essayer.

b/ Préparation de l'α-méthyl-D-arobopyranoside, et de l'α-méthyl-D-galactopyranoside.

Ces deux osides sont préparés suivant le protocole décrit ci-dessus, mais en utilisant des quantités d'ose moins importantes (arabinose 20 g) (galactose 50 g)

c/ Préparation du β-méthyl-D-glucopyranoside.

Le filtrat obtenu lors de la préparation de l'α-méthyl-D-glucopyranoside est neutralisé par environ 80 g de carbonate acide de sodium en poudre ajouté par petites fractions. Après agitation, les sels insolubles sont séparés par filtration et la solution est concentrée sous vide partiel jusqu'à obtention d'un sirop. Celui-ci est repris par une solution chaude de 200 g. d'acétate de potassium dans 500 ml d'éthanol.

Un séjour de 12 heures à voisinage de 0°, fait apparaitre un volumineux précipité formé du complexe β-méthyl-D-glucopyranoside - acétate de potassium. Celui-ci est séparé par filtration sur verre fritté, lavé avec de l'éthanol glacé, de l'acétone, puis séché sous vide phosphorique.

Ce complexe est traité par une solution chaude composée de 110 g d'acide-D-tartrique dans 600 ml de méthanol chaud.

Après repose d'une heure, le tartrate acide de potassium qui précipite est séparé par filtration et le filtrat est concentré sous vide partiel jusqu'à consistance de sirop. Celui-ci laisse cristalliser lentement le β-méthyl-D-glucopyranoside qui, après lavage à l'éthanol glacé est recristallisé dans l'éthanol à 95°.

d/ Préparation du stachyose

Ce tétraholoside est préparé suivant la technique mise au point par SHALLENBERGER (62); l'extraction s'effectue à partir des rizhomes de Stachis Tubifera (L).

2 kg environ de crosnes du Japon, préalablement lavés, sont introduits dans 5 l d'eau et le mélange est maintenu à ébullition pendant environ 15 minutes. Les crosnes sont alors réduits en pâte au sein du liquide dans lequel ils ont subi l'ébullition. Les particu-

les solides sont séparées par filtration du mélange encore chaud sur laine de verre, et le filtrat refroidi est désionisé par chromatographie sur résine échangeuse d'anion (Ambezlite IR450H$^-$, forme OH$^-$, 250 g).

Après décoloration à l'aide de charbon, le pigment jaune restant est éliminé par une nouvelle chromatographie sur résine échangeuse de cation (Permutite 50. forme H^+, 250 g)

L'effluent qui contient des colloïdes de poids moléculaire élevé est concentré sous vide partiel (15 mm Hg) à 50°, jusqu'à un volume d'environ 600 ml. L'addition de 3,5 l d'acétone produit une précipitation; un sirop se sépare.

Après repos de 24 heures la phase organique est décantée et rejetée.

L'acétone contenue dans la phase aqueuse est éliminée par évaporation sous vide et le sirop est extrait par 2 litres d'éthanol à 80 % à une température voisine de 60°. La solution alcoolique tiède est filtrée rapidement. Cette extraction est répétée deux fois. Les solutions alcooliques sont refroidies et additionnées d'acétone, jusqu'à apparition d'un léger trouble. Après repos de quelques jours, le stachyose cristalise.

CHAPITRE N° 2

- : -

ANALYSE QUALITATIVE

Les techniques générales relatives à la chromatographie (sur papier et sur résine) sont celles qui sont habituellement utilisées au laboratoire; nous les mentionnerons succintement, de manière à exposer les quelques modifications qui leur ont été apportées.

a/ Chromatographie sur papier

Nous utilisons le papier d'Arches 304. C'est le type de papier dont la porosité est la plus appropriée pour donner une migration convenable et suffisamment lente. Il peut être avantageux d'utiliser dans quelques cas le papier Schleicher Schüll n° 2043 bM, qui permet d'obtenir une meilleure résolution des taches.

Matériel utilisé

Nous avons utilisé uniquement la chromatographie descendante.

L'enceinte est constituée par une cuve rectangulaire en verre de grandes dimensions (hauteur 44 cm,

largeur 34 cm et profondeur 17 cm). Les bords supérieurs en sont dressés à la meule, et l'appareil est fermé par une dalle de verre épais, de forme rectangulaire, percée en son centre d'un trou de 14 mm environ. Cet orifice est fermé par un bouchon de liège.

A l'intérieur de cette enceinte, est disposé, au moyen d'un support en verre, un auget affectant la forme d'une gouttière semi-cylindrique; cet auget est destiné à contenir le solvant de dispersion dans lequel baignera la partie supérieure du chromatogramme. Un gros agitateur, coupé à dimension convenable, coudé à angle droit à ses deux extrémités, permet le maintien du papier après la mise en place.

La partie supérieure du support constitué de tiges de verre est un berceau épousant la courbure de l'auget; il reçoit celui-ci et il comporte en particulier, dans le sens de la largeur, deux tiges de verre parallèles aux grands bords de l'auget et dépassant leur niveau : le papier reposera sur ces tiges avant de se diriger vers le fond de l'appareil. Le support de verre reçoit l'auget de façon à utiliser la presque totalité de la hauteur de la cuve. Cet auget est situé au dessous du trou central de la plaque d'obturation supérieure.

Technique

Les papiers sont découpés en bandes rectangulaires de 40 cm de longueur sur 25 cm de largeur. Perpendiculairement aux côtés de la bande découpée et à 8 cm du côté supérieur, nous traçons au crayon les emplacements sur lesquels seront disposées les gouttes, les deux extrêmes à 3,5 cm. des bords de la feuille et les autres à 3 cm. les uns des autres. Nous taillons en dents de scie, de 1,5 cm de profondeur la partie inférieure de la feuille; cette dentelure a pour but de régulariser l'écoulement du solvant et d'éviter les effets de bord susceptibles de modifier la direction de cheminement des corps étudiés.

Le dépôt des gouttes sur le chromatogramme s'effectue à l'aide de micropipettes obtenues par étirement d'une canne de verre. Les taches ainsi formées ne doivent pas dépasser 5 mm. de diamètre. Des témoins sont constitués par des solutions aqueuses de sucres connus, à 2%.

S'il est nécessaire de déposer en un même point plusieurs gouttes de liquide, le papier doit être séché entre deux affusions consécutives.

A la fin de l'opération, le papier est abandonné à la température du laboratoire, jusqu'à évaporation totale des dernières traces de liquide.

Les papiers ainsi préparés, secs, sont placés dans la cuve en prenant soin que la ligne de départ se situe environ 2 cm au delà de la baguette de verre sur laquelle repose le papier; celle-ci doit être horizontale.

Au préalable dans le fond de la cuve a été déposé un cristallisoir contenant le solvant utilisé pour le développement. Cette opération a pour but de saturer la cuve et d'imprégner le papier des vapeurs du solvant. L'enceinte est refermée et après quelques heures l'auget est rempli avec le solvant, par le trou de la plaque de verre, en s'aidant d'un entonnoir.

La migration s'effectue en 12 à 48 heures, suivant les produits chromatographiés et les solvants utilisés. Nous laissons, en général, le solvant s'écouler au bas de la feuille, selon le procédé indiqué par JERMYN et ISHERWOOD (44).

Quand le développement est terminé, les papiers sont retirés de la cuve, séchés quelques minutes à l'air, puis à l'étuve à 100°. Il est nécessaire de maintenir pendant les développements une température à peu près constante.

Solvants utilisés

Le type de solvant varie avec les corps à chromatographier. Dans le cas des méthylosides, des pentoses, des hexoses et des diholosides, nous nous

adressons à des solvants habituellement utilisés au laboratoire.

a/ Acétate d'éthyle, acide acétique, eau;
(3 - 1 - 3)
Ce solvant est diphasique.
Après 24 heures de repos, la couche supérieure est séparée et la phase aqueuse inférieure est rejetée.

b/ n - Butanol, Pyridine, eau;
(10 - 3 - 3) Ce solvant est homogène.

La durée de développement des chromatogrammesest de l'ordre de 24 à 48 heures, suivant le poids moléculaire du composé envisagé.

Les solvants précédents fournissent une migration trop lente pour la chromatographie des triholosides et tétraholosides. Le raffinose et le stachyose nécessitent l'emploi des solvants suivants :

a/ Alcool isoamylique, pyridine, eau;
(7 - 7 - 2)

b/ Alcool isoamylique, pyridine, eau;
(7 - 7 - 6)

c/ Isopropanol, n - butanol, eau;
(7 - 1 - 2)

Les polyaldéhydes ont la propriété de donner

avec les solvants envisagés plus haut, des taches plus ou moins étirées.

Il a été nécessaire de mettre au point d'autres solvants ne présentant plus ces inconvénients.

Les solvants monophasiques suivants, ont été essayés sans succès.

Acétate d'éthyle, acide acétique, eau	20 - 5 - 1
n - Butanol, Pyridine, eau	10 - 3 - 1
	10 - 6 - 1
	1 - 1 - 1
	6 - 6 - 1
	9 - 5 - 4

La formule de solvant qui a donné les meilleurs résultats, et qui finalement a été adoptée, est la suivante :

n - Butanol, Pyridine, eau	10 - 6 - 6

Réactions de révélation

I - Révélation générale des oses et des osides.

Tous les corps possédant un groupement oxydable par l'acide periodique ou par le tétracétate de plomb sont révélables par les deux techniques suivantes :

1°- Révélateur au tétracétate de plomb (9) (Technique modifiée par PETEK)

Ce révélateur est préparé en dissolvant quelques minutes avant l'emploi le tétracétate de

plomb dans l'éthanol pur. Après pulvérisation, la révélation par ce réactif s'effectue déjà à la température du laboratoire, mais il est préférable de chauffer 105° pendant deux ou trois minutes. Les corps révélables donnent des taches blanches sur fond brun. La coloration disparait assez rapidement.

2°- Révélateur Periodate - Benzidine.

Nous utilisons la technique décrite par CIFONELLI et SMITH (14). Acide périodique pulvérisé sur un chromatogramme est réduit en acide iodique au niveau des taches correspondant aux composés oxydables. La benzidine étant oxydée par l'acide periodique en une substance bleue et n'étant pas attaquée par l'acide iodique, la pulvérisation ultérieure d'une solution de ce produit fournit une coloration bleue, les taches correspondant aux oses, restant blanches.

Nous pulvérisons très finement, successivement après un repos de 3 minutes entre les deux opérations :

a/ Une solution saturée de periodate de potassium dans l'eau.

b/ Le réactif suivant préparé au moment de l'emploi :

benzidine 0,1 M dans l'alcool à 50° 10 ml

acétone ? ml

acide chlorhydrique 0,2 N 1 ml.

La teinte bleue du fond vire au mauve avec le temps, mais le chromatogramme reste lisible pendant plusieurs mois.

II - Révélateurs des oses et des polyaldéhydes.

Nous avons utilisé les réactions basées sur les propriétés des oses, de fournir à chaud et sous l'action d'un acide, des dérivés furfuriques qui peuvent par combinaison avec des amines ou des phénols, développer des colorations variées.

Les polyaldéhydes provenant de l'oxydation periodique des osides réducteurs ou non réducteurs fournissent dans des conditions identiques une coloration rose spécifique (voir page n° 99)

Nous utilisons un révélateur contenant de la β-naphtylamine suivant la technique décrite par NOVELLI (56) (modifiée par PETEK, recherche inédite).

La composition du révélateur est la suivante :

β-naphtylamine	0,10 g
Thymol	1,00 g
Ethanol 80°	150 ml
Acide orthophosphorique	(d = 1,17) 2 ml

Des taches colorées apparaissent par chauffa-

ge à 105° pendant 5 minutes. Les pentoses se colorent en brun rouge, les cetoses fournissent une teinte jaune clair très nette, les aldohexoses et les holosides renfermant ces derniers suores dans leur molécule donnent des taches brunes.

Technique de révélation

Sur le chromatogramme séché, le réactif est pulvérisé finement. Le séchage s'effectue à l'étuve à 105°, pendant 5 minutes.

b/ Chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions.

Les résines utilisées possèdent un caractère basique, c'est-à-dire qu'elles sont capables de fixer les anions..

Elles appartiennent à deux catégories :

1/ Des résines faiblement basiques, se comportant comme des amines aliphatiques
Amberlite IR450H

2/ Des résines fortement basiques possèdent une structure du type amonium quaternaire.
Amberlite IRA400.

Accessoirement, lorsque nous avons eu besoin de résine échangeuse de cations, nous nous sommes adressés à la Permutite 50, fortement acide, du type sulfonique.

Préparation des colonnes et purification des résines

Les colonnes de verre utilisées, diffèrent les unes des autres par leurs dimensions, leur forme restant la même. Il s'agit d'une simple allonge prolongée à la partie inférieure par un queusot sur lequel s'adapte un tube de caoutchouc muni d'une pince de Mohr.

Ces colonnes sont maintenues sur un support suivant le procédé décrit par MALANGEAU (50)

Les résines livrées dans le commerce, sont impropres à l'usage analytique. Le diamètre des particules est irrégulier et il est nécessaire de ne conserver que celles ayant un diamètre moyen. La séparation est réalisée par double tamisage. Seules les particules passant au travers d'un tamis module 30 (ouverture des mailles 0,800 mm) et étant retenues par un tamis module 27 (ouverture des mailles 0,400 mm) sont conservées. Les grains ont donc une taille comprise entre 0,4 et 0,8 mm.

La résine est ensuite immergée dans l'eau (150g. dans un bécher de 1.000 ml) pour permettre le gonflement des particules. On profite de cette manipulation pour laver la résine par agitations et décantations successives, jusqu'à ce que le liquide surnageant reste parfaitement limpide.

Les résines sont alors débarrassées des impuretés qu'elles contiennent. Le traitement est différent suivant qu'il s'agit de résines échangeuses d'anions ou

échangeuses de cations.

a/ Echangeuse d'anion.

Les résines sont agitées avec de la soude 2 N puis après décantation et lavage, agitées avec l'acide chlorhydrique 2 N, une nouvelle décantation est suivie d'un nouveau lavage. Ces opérations sont répétées trois fois, puis la résine est lavée à fond avec de l'eau.

b/ Echangeuse de cation.

La résine est agitée avec de l'acide chlorhydrique 5 N, l'acide est décanté et le traitement est renouvelé trois fois; la résine est alors lavée à l'eau.

Le remplissage des colonnes s'effectue d'une manière telle que le tassement soit homogène, et que la masse ne retienne aucune bulle d'air.

Enfin, les résines ainsi préparées, doivent dans un dernier stade, être activées et amenées sous leur forme définitive. Ici encore, le traitement diffère suivant à la fois le type de résine envisagé et la forme finale sous laquelle doit se trouver celle-ci.

a/ Echangeuse d'anion

1 - Forme basique (OH^-)

La colonne est irriguée au moyen d'une solution aqueuse contenant 125 ml de lessive de soude (d=1,33) pour 1.000 ml, jusqu'à ce que l'effluent

présente une réaction fortement alcaline.

2 - Forme acétate (CH_3COO^-)

L'irrigation se fait successivement à l'aide de deux solutions aqueuses; acétate de sodium 1 M, puis acide acétique 1 M, jusqu'à ce que l'effluent présente une réaction acide.

Dans ces deux cas, il est nécessaire d'effectuer un lavage soigné, à l'aide d'eau distillée, jusqu'à neutralité de l'effluent.

b/ Echangeuse de cation, forme acide (H^+)

La colonne est activée par passage d'acide chlorhydrique environ 2 N jusqu'à réaction acide de l'effluent, puis lavage à l'eau distillée jusqu'à neutralité de celui-ci.

Le passage de toutes les solutions doit se faire lentement.

c/ Caractérisation des polyaldéhydes au moyen de la réaction à la diphénylamine .

(DISCHE et BORENFREUD (16))

L'hydrolyse acide des dialdéhydes des méthyl hexosides fournit une rupture de la molécule au niveau de pont oxydique avec libération d'une molécule d'aldéhyde glycérique et une molécule de glyoxal (page n°38)

Le glyoxal réagit en milieu fortement acé-

tique et en présence de faible quantité d'acide sulfurique sur la diphénylamine en donnant une coloration verte caractéristique.

Nous avons remarqué qu'il était inutile de procéder à une hydrolyse préalable; le chauffage du dialdéhyde en présence du réactif colorant, donne une libération très régulière de glyoxal.

Technique

Dans un tube à essai bouchant èmeri, nous introduisons 1 ml de la solution à essayer et 2 ml du réactif suivant :

Réactif :

Diphénylamine (recristallisé dans l'alcool à 70°)	0,800 g
Acide acétique glacial	80 ml
Acide sulfurique pur R.P.	0,55 ml

Un essai témoin dans lequel la solution à essayer est remplacée par 1 ml d'eau distillée est préparé dans les mêmes conditions.

Les tubes sont immergés pendant 30 minutes dans un bain-marie bouillant.

Le tube témoin ne doit pas présenter de coloration verte.

Remarque

Les polyaldéhydes traités dans les mêmes condi-

tions, présentant de même, une coloration voisine de la précédente

- ; -

CHAPITRE N°3

ANALYSE QUANTITATIVE

Dans ce paragraphe, nous exposerons particulièrement les techniques se rapportant au dosage de l'acide periodique et des produits apparaissant généralement lors de l'action de cet oxydant sur les glucides.

En outre, nous mentionnerons à la fin de cet exposé, les protocoles qui nous ont permis de mesurer quelques constantes physiques des produits originaux que nous avons préparés.

a/ Détermination de la quantité d'acide periodique consommé dans l'oxydation des osides en presence d'un excès d'oxydant.

En milieux aqueux, tamponné par un excès de carbonate de potassium, et en présence d'iodure de potassium comme catalyseur, l'acide periodique oxyde regulièrement l'acide arsénieux en acide arsénique, alors que dans ces conditions l'acide iodique ne réagit pas.

$$HIO_4 + H_3AsO_3 \longrightarrow HIO_3 + H3\ As\ O_4$$

A partir de cette réaction, FLEURY et LANGE (I9) ont mis au point une technique maintenant classique de dosage de l'acide periodique.

Une prise d'essai convenable est traitée par une quantité en excès d'acide periodique libre en solution aqueuse 0,05 M environ.

Un témoin obtenu en remplaçant la solution à doser par un égal volume d'eau distillée est préparé dans les mêmes conditions.

Les deux solutions sont laissées en repos pendant un minimum de 30 minutes à la température du laboratoire.

Les deux échantillons sont neutralisés par un excès de carbonate acide de potassium, additionnés d'une même quantité de solution d'anhydride arsénieux 0,IN et de 20 gouttes de solution d'iodure de potassium à 20 %.

Aprés 20 minutes de contact, l'excès d'anhydride arsénieux, qui n'a pas réagi, est dosé à l'aide d'une solution d'iode 0,I N dans chacun des essais.

La quantité d'acide periodique consommé, exprimée en ml de solution (0,05M), correspond à la différence entre les quantités d'iode consommées par les deux essais.

b/Dosage des corps libérés lors des oxydations

I° -Dosage de l'acide formique

Nous avons utilisé la méthode classique à l'éthy-

lène glycol. Lorsqu'une molécule d'acide periodique oxyde une molécule d'éthylène glycol, ce dernier est scindé et deshydrogéné en deux molécules de formaldéhyde; il n'y a libération d'aucune molécule d'acide; l'acide periodique est transformé en acide iodique.

$$CH_2OH - CH_2OH + HIO_4 \longrightarrow 2HCHO + HIO_3 + H_2O$$

Si parallèlement, essai et témoin préparés dans les mêmes conditions, sont traités par un excès d'éthylène glycol, l'acidité relative à l'acide iodique est identique dans les deux essais, et la différence d'acidité est uniquement fonction des acides libérés par l'oxydation.

Nous mettons en contact les corps à oxyder avec l'acide periodique en excès, et préparons un témoin en substituant un égal volume d'eau distillée à la solution du corps à oxyder. Après une durée de contact variable, le témoin et l'essai sont traités par 1 ml d'éthylène glycol. Après un temps de contact variable suivant les cas, l'acidité développée est dosée par la soude 0,1 N en présence d'indicateur de Tashiri (rouge de méthyle - bleu de méthylène). La différence entre les quantités de soude consommées par l'essai et le témoin correspond directement à l'acidité libérée par l'oxydation periodique.

Remarque importante

Au cours de ces dernières années, l'attention des Chercheurs a été attirée sur le fait que, lors de l'oxydation des oses et osides par le tétracétate de plomb ou l'acide periodique, il apparait des esters formiques au cours des premiers stades de la réaction.

C'est la raison pour laquelle nous ne titrons l'acidité développée, qu'après un repos suffisant qui permet aux esters formiques d'être totalement hydrolysés.

2° - Dosage du formaldéhyde

Nous avons employé la technique reposant sur la précipitation du formaldéhyde par la diméthylcyclohexadione (dimedon)

25 ml du produit d'oxydation sont additionnés d'une quantité suffisante de solution d'iodure de potassium à 20 % et d'acide chlorhydrique 2 N, pour libérer la totalité de l'iode. Cet iode est alors réduit par un excès de solution d'anhydride arsénieux, environ 0,5 N à pH 4,6. Après contact de deux heures le pH est amené au voisinage de 4,6 au moyen de soude 1 N environ, en présence de rouge de méthyle. Il est nécessaire de passer au virage de l'indicateur au jaune avec la soude, et de revenir en arrière, avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Le milieu est alors tamponné à pH 4,6, par addition de 60 à 75 ml.

de la solution :

Acétate de sodium 1 M	100 ml
Acide chlorhydrique 1 N	48 ml.

Nous ajoutons une quantité de solution aqueuse à 5 g par litre (ou saturée) de dimédon, égale à la quantité du tampon utilisée. Après précipitation de 12 heures au minimum, le précipité est recueilli sur filtre en verre fritté G3, abondamment lavé à l'eau distillée et séché pendant 24 heures, à une température inférieure à 70°. Le point de fusion instantané du précipité doit être vérifié par rapport à un précipité témoin, obtenu dans les mêmes conditions à partir d'une solution aqueuse de formaldéhyde. Il est nécessaire de prendre le point de fusion du mélange dosage - témoin.

Les précipités dimédoniques doivent avoir un point de fusion de 189°.

Le point de fusion du mélange essai-témoin, ne doit pas être inférieur à 187° (30) (mesuré au banc chauffant)

3° - Dosage de l'acétaldéhyde

Nous avons suivi la technique de FRIEDMANN et collaborateurs (18) dont le principe est le suivant :

L'acétaldéhyde est transformé en dérivé bisulfitique par un excès de bisulfite de sodium. Après destruction de cet excès, le composé bisulfitique est dissocié par addition de carbonate acide de potassium et

le sulfite libéré dosé par une solution d'iode titrée.

Nous avons suivi le protocole opératoire suivant: 15 ml de solution d'acétaldéhyde sont traités par 10 ml de solution de bisulfite de sodium 0,1 M environ. Après 10 minutes de contact, on ajoute de l'iode 0,1 N et pour terminer 0,01 N, jusqu'à virage au jaune. 10 ml de bicarbonate de potassium saturé sont alors ajoutés : la solution se décolore et le titrage s'effectue à l'aide d'une solution 0,01 N d'iode. 1 ml d'iode 0,01 correspond à 220 µg d'acétaldéhyde.

4° - Dosage des polyaldéhydes

Nous utilisons la réduction de l'hypoiodite suivant la technique proposée par BOUGAULT (8) et modifiée par PAUCHARD (59). Ce dosage est basé sur l'action oxydante de l'iode en milieu alcalin, vis-à-vis des polyaldéhydes.

Dans des flacons bouchés à l'émeri, nous introduisons un volume déterminé de solution aqueuse de polyaldéhyde et nous ajoutons 3 ml d'iode 0,1 N (la quantité d'iode en excès, une fois la réaction terminée, doit être égale à environ deux fois la quantité d'iode réduite). Dans le même temps, nous préparons les essais à blanc, en remplaçant la solution à doser par un égal volume d'eau distillée.

Les flacons sont refroidis par immersion d'environ 30 minutes dans la glace fondante. Après addition dans chacun d'eux d'une solution glacée à 15% de carbonate neutre de sodium cristallisé, ceux-ci sont abandonnés pendant 1 heure 30 minutes à l'obscurité à 0°.

Au bout de ce temps de contact, le titrage après acidification à l'aide de 3 ml d'acide chlorhydrique 1 N, est effectué par une solution de thiosulfate de sodium 0,04 M.

5° - Dosage des fonctions aldéhydes libres

Nous avons utilisé la réaction de Schiff : la fuschine décolorée par l'anhydride sulfureux, donne à froid avec la plupart des aldéhydes, une coloration rouge violacée.

Nous avons suivi la technique décrite par PAQUIN (58). Nous effectuons la réaction colorée sur 10 ml de solution à pH 3, en ajoutant 0,1 ml de réactif de Schiff, préparé selon la formule de Van OSS (67). Les tubes sont agités, bouchés et laissés au repos, à la température du laboratoire pendant 3 heures.

L'intensité de la coloration est estimée au spectrophotomètre, pour la longueur d'onde de 560 mμ comparativement à un essai à blanc et par rapport à des essais contenant des quantités connues de formaldéhyde :

Réactif :

Pararosaniline	0,5 g
Eau distillée	100 ml
Métabisulfite de potassium	2 g

Dissoudre d'abord le colorant, puis le métabisulfite et ajouter ensuite :

Acide chlorhydrique N	6,5 ml
Charbon décolorant	0,8 g

Après agitation, laisser une nuit à la glacière à 4°, puis filtrer. Conserver dans un flacon brun et à la glacière à 4°.

c/ Détermination de quelques propriétés physiques.

1/ Détermination des poids moléculaires

La détermination du poids moléculaire s'effectue par cryoscopie en milieu aqueux, suivant la technique habituelle.

Les solutions utilisées qui ont une concentration voisine 2 - 3% sont préparées par pesée exacte des produits déséchés sous vide phosphorique (La concentration C est exprimée en g/100 ml. de solvant)

Nous déterminons l'abaissement du point de congélation Δt (en degrés) de ces solutions et nous calculons le poids moléculaire M par la relation :

$$M = 18,5 \frac{C}{\Delta t}$$

2/ Détermination des points de fusion

Les points de fusion ont été déterminés en tube capillaire ouvert suivant la technique décrite par SEMIATYCKI (63)

3/ Détermination de pouvoirs rotatoires

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés sur des solutions préparées par pesée exacte des polyaldéhydes séchés sous vide phosphorique (concentrations voisines de 1,5 p. 100) pour la raie jaune du mercure à l'aide d'un tube polarimetrique de 2 dm. pour une température de 20° C.

2ème PARTIE

PREPARATION DE DIVERS POLYALDEHYDES

- : -

CHAPITRE n° 1

- : -

TECHNIQUES ANTERIEURES

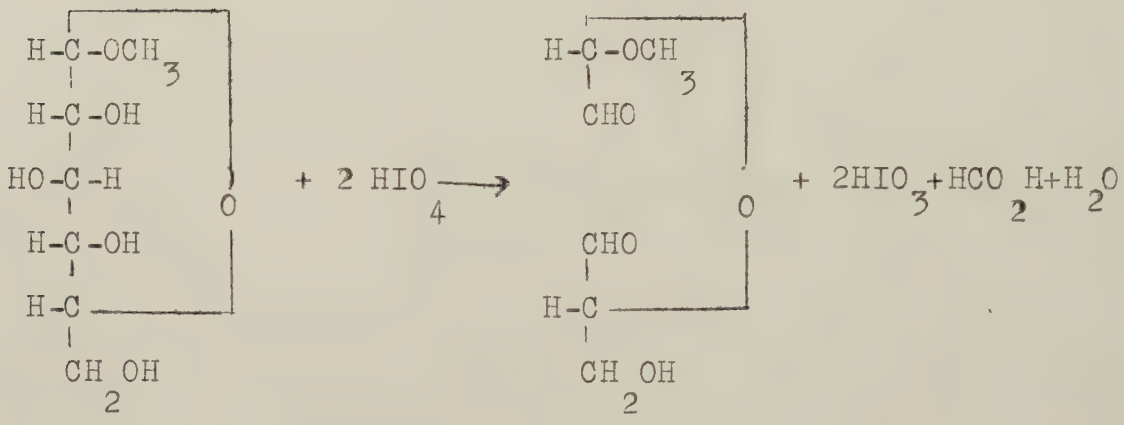
1/ Introduction

a - Oxydation des pyranosides et des furanosides

L'acide périodique en excès oxyde régulièrement les méthylhexopyranosides : la liaison osidique stabilise le cycle pyranique du glucoside et seules les fonctions α-glycol présentes dans la forme pyranique sont attaquées par l'acide periodique; le schéma n°1 représente l'oxydation de l' α-méthyl-D-glucopyranoside.

Schéma n° 1

Oxydation de l'α-méthyl-D-glucopyranoside



L'acide periodique n'attaque que les hydroxyles contigüs supportés par les atomes de carbone 2,3 et 4; le cycle pyranique est rompu, l'atome de carbone 3 s'en trouve séparé sous forme d'acide formique et il apparait un dialdéhyde possédant un atome de carbone de moins que l'aldohexose initial.

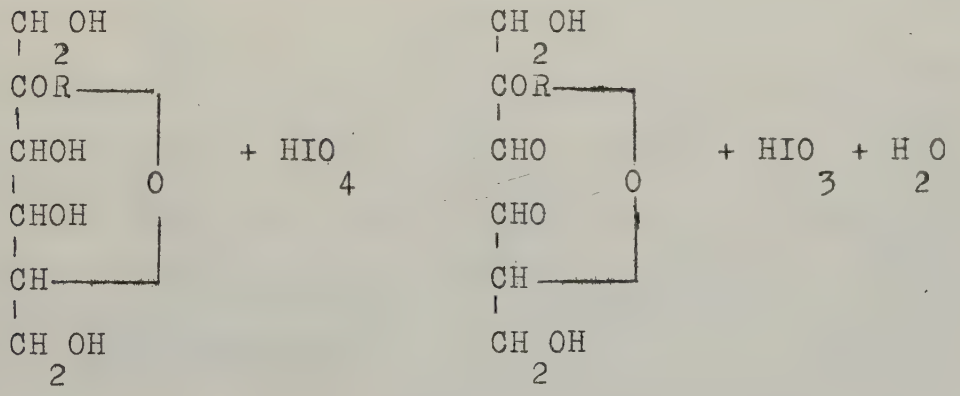
L'oxydation par l'acide periodique fait disparaitre les sources d'assymétrie introduites par les atomes de carbone 2,3 et 4; le dialdéhyde est encore optiquement actif puisqu'il conserve les carbones assymétriques 1 et 5 de l'aldohexose initial. Mais la disposition de ces carbones assymétriques peut se retrouver dans d'autres oses. C'est ainsi que le schéma n°1 représente un dialdéhyde qui est commun par exemple à l'α-méthyl-D-glucopyranoside, à l'α-méthyl-D-galactopyrano-

side et à l'α-méthyl-D-mannopyranoside.

Parallèlement l'osidification stabilise l'hétérocycle furanique. Un cétohexofuranoside ne possède plus qu'une fonction α-glycol libre, intéressant les atomes de carbones 3 et 4; la rupture a lieu entre ces deux atomes et il apparait un dialdéhyde ayant le même nombre d'atomes de carbone que le cetohexose initial. Le schéma n° 2 montre qu'à la différence du dérivé pyranique, l'oxydation par l'acide periodique du dérivé furanique ne libère pas d'acide formique.

Schéma n° 2

Oxydation des fructofuranoside



R est un radical alcoolique ou phénolique non oxydable par l'acide periodique.

Les quantités d'acide periodique réduit et d'acide formique libéré fournissent une première

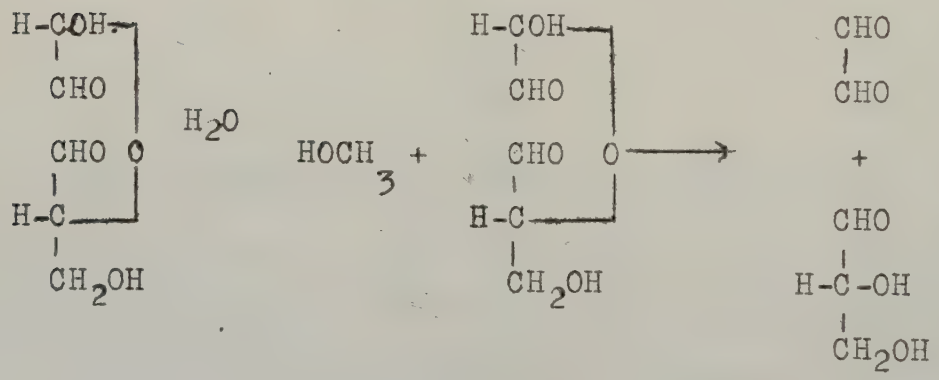
possibilité de différenciation des osides.

Le chauffage avec les acides dilués provoque l'hydrolyse des liaisons osidiques, le pont oxydique correspondant à l'ancien cycle pyranique ou furanique est instable et le produit d'oxydation periodique de l'ose est scindé en deux fragments.

Dans le cas de l'α-méthyl-D-glucopyranoside oxydé (schéma n°1) il se forme une molécule de glyoxal correspondant aux atomes de carbone 1 et 2 de l'ose initial, tandis que les atomes de carbone 4, 5 et 6 figurent dans une molécule d'aldéhyde glycérique. (Schéma n°3)

Schéma n° 3.

Hydrolyse du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.



Les aldéhydes libérés par hydrolyse des produits d'oxydation periodique se prêtent mal à une identification : seul le glyoxal avec la diphénylamine (17) développe une coloration verte caractéristique.

Pour identifier ces aldéhydes, il est préférable de les combiner avant hydrolyse à un réactif du

groupement carbonyle, par exemple la phénylhydrazine ou ses dérivés; il est alors facile de différencier les hydrazones séparées après hydrolyse.

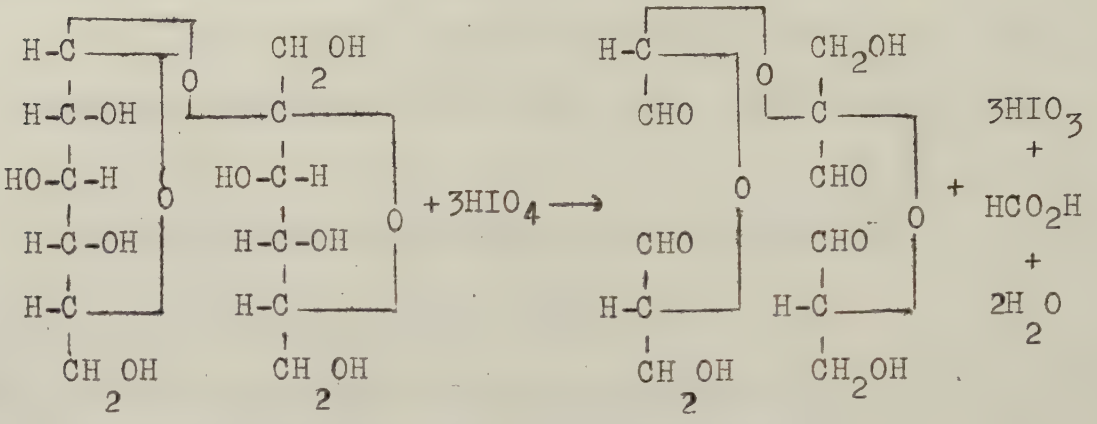
b - Oxydation des oligosides non réducteurs

Dans le cas des oligosides non réducteurs, chacune des unités furanoside ou pyranoside est oxydée indépendamment selon les schémas précédents (schémas n°1 et n°2).

Dans le saccharose, la fraction glucopyranoside réduit deux molécules d'acide periodique en libérant une molécule d'acide formique. De son côté, la fraction fructofuranose ne réduit qu'une molécule d'acide periodique sans libérer d'acide formique. Le saccharose conduit ainsi à un tétraldéhyde (schéma n°4) oxydable par le brôme, en un tétracide qui est scindé par hydrolyse en une molécule d'acide glyoxylique, une molécule d'acide hydroxypyruvique et deux molécules d'acide glycérique, FLEURY et COURTOIS (21)

Schéma n° 4

Oxydation du saccharose
(α -glucoside (1 $\longrightarrow$ 2) β -fructose)



Les schémas n°5 et n°6 représentent l'action oxydante d'acide periodique sur les galactosides du saccharose (raffinose et stachyose)

Schéma n° 5

Oxydation du raffinose
(α-galactoside (1$\rightarrow$6) α- glucoside (1$\rightarrow$ 2)
β - fructose)

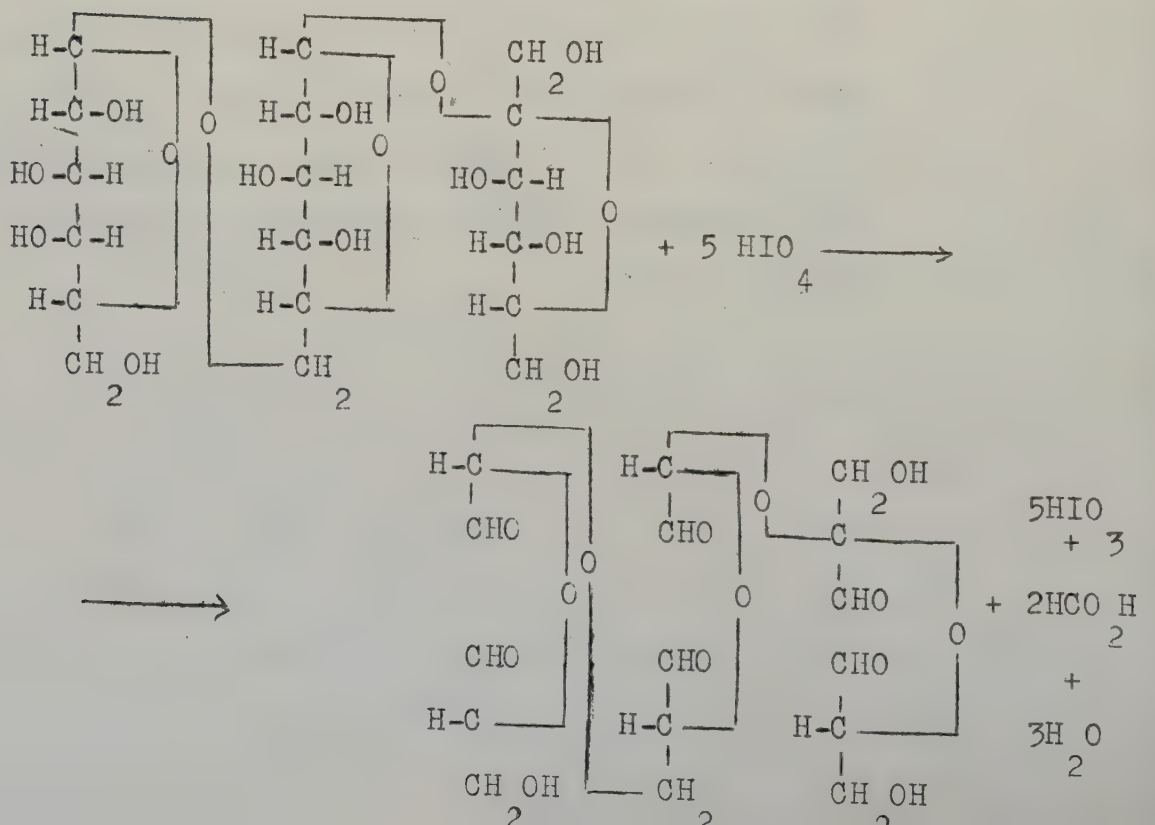
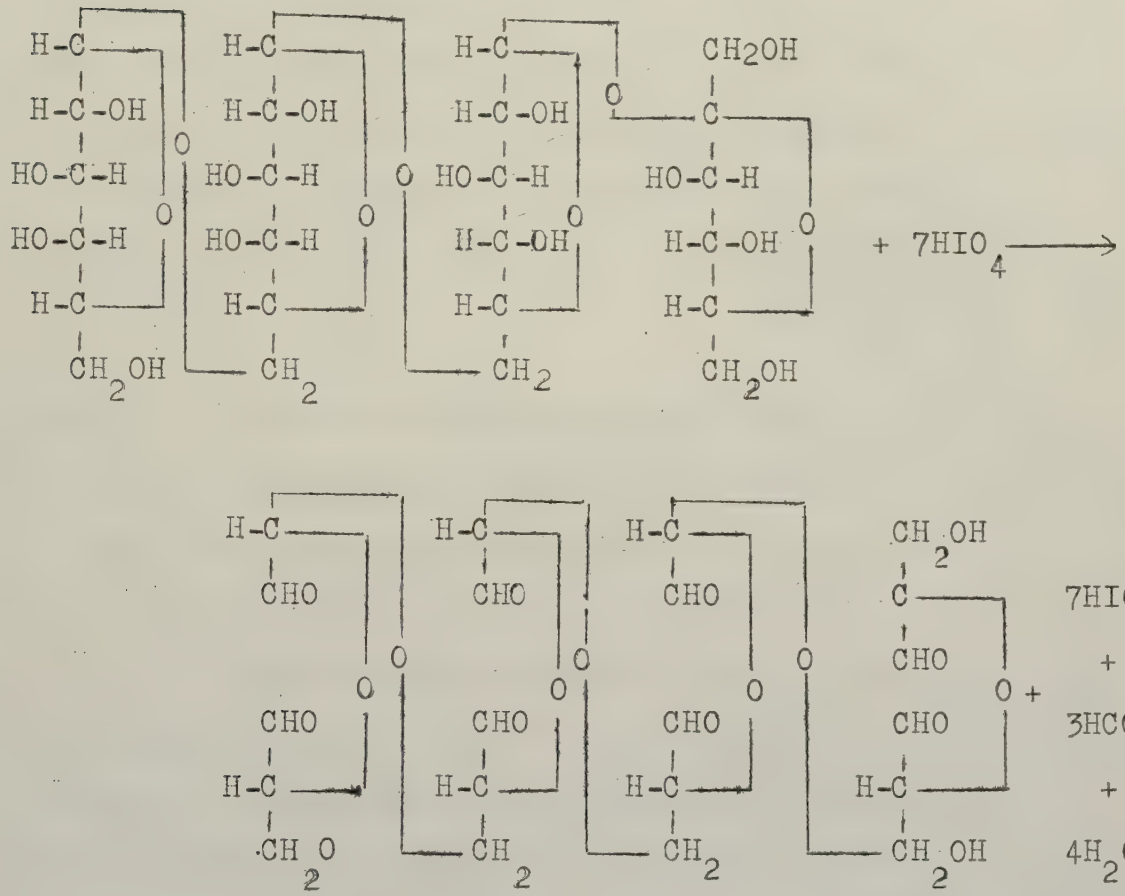


Schéma n° 6

Oxydation du stachyose
(α-galactoside (1 → 6), α-galactoside (1 → 6),
α-glucoside (1 → 2) β-fructose)



Il apparait un hexaldéhyde et un octaldéhyde qui s'oxydent par le brôme en polyacides. Ceux-ci sont susceptibles d'être scindés par hydrolyse avec formation des mêmes produits que ceux précédemment obtenus à partir de l'hydrolyse du tétracide provenant du saccharose.

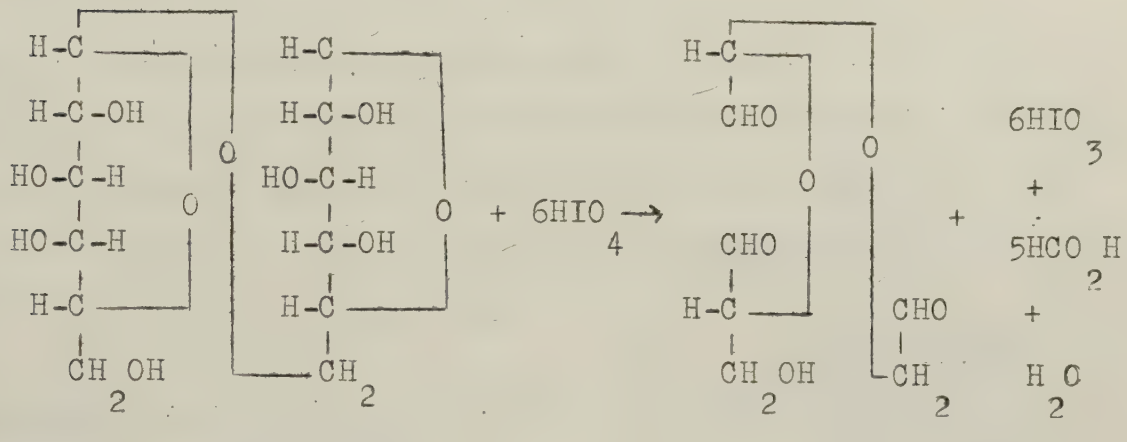
c - Oxydation des oligosides réducteurs

Dans le cas des oligosides réducteurs, l'ose dont le groupement réducteur est libre, s'oxyde comme s'il se trouvait sous forme linéaire, tandis que les oses dont les groupements réducteurs sont impliqués dans les liaisons osidiques sont oxydés comme les pyranosides ou furanosides correspondant.

L'acide periodique oxyde le mélibiose (α-galactoside (1 ⟶ 6) glucose) selon le schéma n°7 : la molécule de galactose se trouve sous forme d'α-galactopyranoside; la liaison osidique est stabilisée par l'union avec la fonction alcool primaire du glucose. La molécule de galactose est oxydée selon le schéma n°1 et le glucose est oxydé comme s'il réagissait sous forme linéaire (29). Cependant, comme la fonction alcool primaire est bloquée; il existe un groupement α-glycol de moins que dans le glucose non combiné; la liaison entre les atomes de carbone 5 et 6 du glucose n'est pas rompue; pourtant, il n'apparait pas d'aldéhyde formique et un reste d'aldéhyde glycolique demeure lié au dialdéhyde dérivant de la fraction galactose.

Schéma n° 7

Oxydation du mélibiose (∝-galctoside (1→6) glucose)



Le trialdéhyde est oxydable par le brôme en un triacide libérant par hydrolyse une molécule d'acide glyoxylique, une molécule d'acide -D-glycérique provenant du galactose et une molécule d'acide glycolique ayant pour origine les carbones 5 et 6 de la fraction glucose, COURTOIS, WICKSTRÖM et LE DIZET (13).

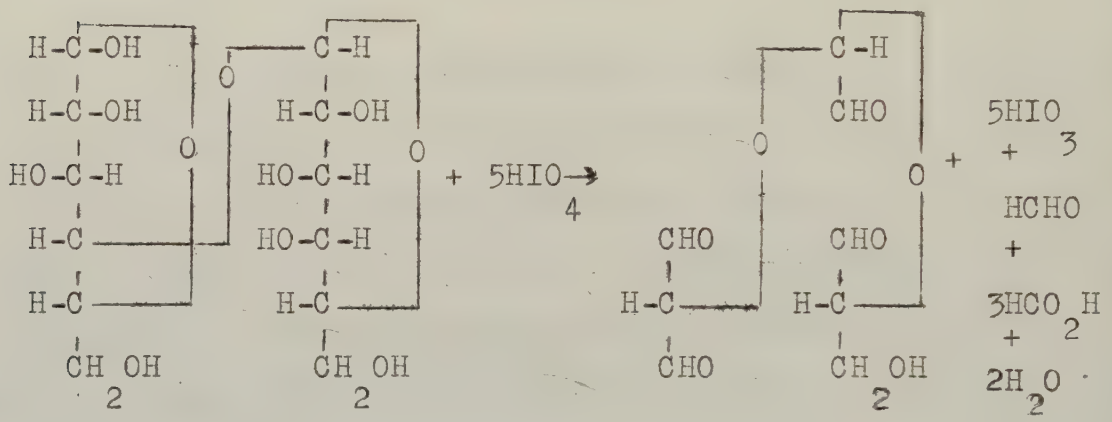
Le comportement du mélibiose avec l'acide periodique est caractéristique des propriétés des oligosides réducteurs; l'ose dont le groupement réducteur est bloqué, réagit comme un oside, tandis que l'ose terminal réagit comme les oses libres; la réaction est cependant moins étendue puisqu'il est substitué sur l'une des fonctions glycol.

Sur les oligosides réducteurs qui possèdent une liaison 1→4, l'acide periodique réagit suivant un schéma un peu plus complexe; le polyaldéhyde

qui se forme dans un premier temps (schéma n°8), subit dans une seconde phase une superoxydation relativement lente; cette dernière s'accompagne de la rupture des divers ponts oxydiques et les fragments ainsi préparés sont attaqués indépendamment par l'acide periodique.

Schéma n° 8

Oxydation du lactose (β-galactoside (1→4) glucose)



En négligeant la superoxydation, on peut considérer que le lactose (β-galactoside (1→ 4) glucose) réagit selon le schéma n°8. Dans la molécule de glucose la fonction alcool portée pat l'atome de carbone 4 est engagée dans la liaison osidique, seules les liaisons entre les carbones 1, 2 et 2, 3 peuvent réagir. La molécule de glucose s'oxyde comme si elle réagissait sous forme linéaire. La molécule de galactose s'oxyde selon le schéma n° 1. Il apparait trois molécules d'acide formique et une molécule de formaldéhyde; cette dernière provient

de la fonction alcool primaire supportée par l'atome de carbone 6 de la molécule de glucose.

Le tétraldéhyde s'oxyde par le brôme en un tétracide qui, par hydrolyse, libère une molécule d'acide glyoxylique, une molécule d'acide D-glycérique et une molécule d'acide hydroxymalonique; cette dernière provient de la fraction glucose.

TABLEAU N° 1

Aldéhydes obtenues par hydrolyse acide

Polyaldéhydes des	Glyoxal	Glycolique	Glycérique	Hydroxy-pyruvique
méthyl-pentopyranosides	1	1		
méthyl-hexopyranosides	1		1	
melibiose	1	1	1	
lactose	1		2	
saccharose	1		2	1
raffinose	2		3	1
stachyose	3		4	1

Les polyaldéhydes correspondants à ces osides s'obtiennent facilement par action de l'acide periodique en excès. Après élimination de l'excès de l'acide periodique et de l'acide iodique formé, la concentration des solutions aqueuses fournit un sirop. La cristallisation de ces produits s'avère difficile, et seuls quel-

ques auteurs ont réussi à cristalliser le polyaldéhyde correspondant au méthylrhamnoside (23) et à certains polysaccharides de haut poids moléculaire (61).

Dans une première série d'essais, nous avons répété les protocoles de préparation proposés antérieurement par divers Chercheurs.

La plupart de ces procédés reposent sur l'élimination des acides oxygénés de l'iode, par précipitation sous forme de leurs sels de baryum (20).

2/ Elimination des dérivés oxygénés de l'iode par précipitation sous forme de sels de Baryum.

A 25 ml de solution 0,1 M d'α-méthyl-D-glucopyranoside, nous ajoutons 150 ml de solution d'acide periodique libre 0,05 M (3 molécules d'acide periodique pour 1 molécule d'oside). La réaction s'effectue à l'obscurité et la marche en est suivie par mesure du pouvoir rotatoire.

Lorsque celui-ci atteint une valeur constante, on s'assure en utilisant la méthode de dosage décrite par FLEURY et LANGE (19) que la quantité d'acide periodique consommée, correspond bien à 2 molécules d'acide periodique par molécule d'oside.

La solution réactionnelle est alors neutralisée, en

présence de phénolphtaléïne, à l'aide d'une solution saturée d'hydroxyde de baryum. Le léger excès de baryte est éliminé par barbottage de gaz carbonique. Après filtration et lavage du précipité, la solution est concentrée sous vide partiel à une température voisine de 40°, jusqu'à consistance sirupeuse, puis séché sous vide phosphorique.

Le résidu est alors extrait à trois reprises par chaque fois 25 ml d'éthanol froid, puis par trois nouvelles fractions de 10 ml.

Par évaporation sous vide des fractions alcooliques, on obtient le dialdéhyde sous forme de sirop.

Ce procédé de préparation a été répété à plusieurs reprises avec ce même glucoside, puis avec l'α-méthyl-D-galactopyranoside et l'α-méthyl-D-mannopyranoside qui donnent tous le même dialdéhyde. Il n'a jamais été possible de faire cristalliser le dialdéhyde à partir de ces sirops.

L'étude de ces produits a montré que quel que soit le nombre d'extractions éthanoliques, le sirop contient des quantités non négligeables de dérivés iodés (iodate et periodate de baryum).

L'addition d'une solution d'iodure de potassium en milieu acétique, révèle la présence des ions iodate et periodate par une libération d'iode.

L'addition d'acide sulfurique met en évidence la

présence de l'ion Baryum.

Il est possible d'envisager que la contamination du dialdéhyde par des quantités non négligeables d'ions minéraux, entrave la cristallisation de celui-ci.

- : -

CHAPITRE N° 2

- : -

TRAVAUX PERSONNELS

1/ Etude de la désionisation à l'aide de résines échangeuses d'anions.

Dans une seconde série d'essais, nous avons donc envisagé l'emploi des résines échangeuses d'anions déja préconisées par KHYM et COHN (46).

Etude des différents types des résines.

La fixation de l'acide iodique et de l'acide periodique sur les résines, a été étudiée par quelques Auteurs (36)

Ce procédé permet, à partir des produits d'oxydation, d'obtenir des polyaldéhydes débarrassés de tout anion minéral.

Nos recherches ont porté sur deux types de résines utilisées d'une manière courante au laboratoire : Amberlite IR450H (faiblement basique) et Amberlite IRA400 (fortement basique).

Deux séries d'essais ont concerné l'utilisation de ces résines sous forme basique (OH^-) d'une part et sous forme acétate (CH_3COO^-) d'autre part.

a / Résine sous forme basique (OH^-)

Dans tous ces essais, nous utilisons de petites colonnes dont les dimensions intérieures sont : longueur 400 mm, diamètre 12 mm; elles sont remplies avec 5 ml de résine humide environ.

Dans un premier temps, nous chromatographions 20 ml d'un mélange contenant à parties égales, des solutions d'acide iodique et d'acide periodique respectivement 0,05 M.

Nous vérifions que l'effluent et les eaux de lavage ne contiennent aucune trace de dérivés oxygénés de l'iode par addition, après concentration, d'une solution d'iodure de potassium en

milieu acétique.

Sur des colonnes identiques, nous chromatographions dans les mêmes conditions, 10 ml de solution 0,005 M de dialdéhyde (solution titrée par la méthode à l'hypoïodite) L'effluent est recueilli, la colonne est lavée par 60 ml d'eau distillée. Les solutions réunies sont concentrées sous vide partiel à basse température. Nous vérifions que ces solutions ne contiennent pas de dialdéhyde en utilisant soit la réaction à la diphénylamine (page 22)soit la réaction à la touche avec le révélateur à la β -naphtylamine (page 18)

Les essais réalisés sur les deux types de résines ont montré que les ions periodate et iodate sont fixés en totalité et que de la même manière les dialdéhydes sont entièrement retenus.

Des essais identiques, effectués sur le tétraldéhyde du lactose, du maltose et du saccharose, nous ont conduit aux mêmes conclusions.

L'élution, à l'aide de solvants organiques, des polyaldéhydes ainsi fixés est impossible : l'éthanol et le méthanol à des titres variant de 20 à 100 p/100, de même que le méthanol bouillant se révèlent inactifs.

Le caractère faiblement acide des polyaldéhydes nous a conduit à envisager l'action éluante de solutions d'acides minéraux ou organiques.

L'élution des colonnes par des gradients d'acidité croissante, nous a montré la stabilité des liaisons entre les polyaldéhydes et la résine.

Le gradient d'acidité a été obtenu par la technique suivante ; un ballon de 2 litres contenant 1,5 litre d'acide de concentration déterminée est hermétiquement bouché. Il possède deux tubulures : l'une constitue une entrée d'air réglable et l'autre est un siphon plongeant dans un réservoir de 1,5 litre contenant 1 litre d'eau distillée, isolé de l'atmosphère, et lui-même relié par un deuxième siphon à la colonne chromatographique.

L'homogénéisation du mélange qui se réalise dans le réservoir d'eau distillée est assurée par agitation magnétique.

L'effluent est recueilli par fractions de 10 ml à l'aide d'un collecteur.

Dans chaque échantillon, nous recherchons d'une part, les dérivés oxygènes de l'iode et, d'autre part, les polyaldéhydes.

Nous déterminons le titre en acide des premiers tubes présentant une réaction positive pour les différents composés.

a/ Résine IR450H (sous forme basique OH^-)

Les quantités de résines utilisées restent égales à 5 ml (résine humide) sur lesquels nous

fixons 50 micromoles de dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.

L'acide utilisé pour préparer le gradient d'élution est une solution d'acide sulfurique 0,56 N.

Le dialdéhyde apparait dans le neuvième tube et est présent dans tous les tubes jusqu'au trentième. La concentration acide du neuvième tube est de 0,003 meq/ml.

Un essai identique dans lequel le dialdéhyde a été remplacé par 500 micromoles d'acide periodique et 500 micromoles d'acide iodique, montre que la résine prend une coloration brune dûe à une libération d'iode; les dérivés iodés sont élués par une solution d'acide sulfurique 0,004 N.

b/ Résine IRA400 (sous forme basique OH^-)

Des expériences identiques ont montré que le dialdéhyde et les dérivés de l'iode étaient libérés par une solution d'acide sulfurique 0,005 N.

Le remplacement de l'acide sulfurique par l'acide chlorhydrique fournit des résultats identiques.

Il est donc impossible, par cette technique, de priver une solution de dialdéhyde des acides iodique et periodique qui les accompagnent, puisque tous ces composés sont éliminés en bloc, ou que,

dans le cas contraire, les concentrations acides éluant respectivement chacune de ces composés sont trop voisines.

Il est nécessaire de noter que les concentrations d'acide sulfurique et chlorhydrique utilisées précédemment, sont très faibles, ce qui nous amène à envisager l'utilisation d'un acide organique peu ionisé, facilement éliminable des effluents par simple évaporation.

Notre choix s'est fixé sur l'acide acétique.

Sur des colonnes de résine IR450H (sous forme basique OH^-) il est possible d'éluer le dialdéhyde avec des solutions d'acide acétique 2,15 N. Les ions iodate et periodate restent fixés. Des contrôles ultérieurs ont montré qu'une solution d'acide acétique 8,5 N était incapable de les libérer.

La résine IRA400 (sous forme basique OH^-) nous a conduit à des résultats superposables.

Il est donc possible par l'utilisation de solutions d'acide acétique de concentration inférieure à 8,5 N, de séparer les polyaldéhydes des dérivés oxygénés de l'iode.

Dans le but de simplifier la méthode, nous avons dans une deuxième expérimentation, étudié non plus l'élution de dialdéhyde, mais la capacité de fixation relative des polyaldéhydes et des acides

iodiques et periodique sur les deux types de résine préparée sous forme acétate.

Des essais préliminaires montrent que si la désionisation de l'effluent est totale, celui-ci contient des proportions variables en polyaldéhyde suivant le type de résine considérée.

La résine IR450H (sous forme acétate) retient des quantités notables de polyaldéhyde. Ce type de résine a été abandonné et nos essais ultérieurs ne sont relatifs qu'à la résine IRA400, dont nous avons comparé les possibilités d'utilisation sous les formes basiques (OH^-) et acétate (CH_3COO^-)

Nous utilisons toujours des colonnes contenant 5 ml de résine humide, sous forme OH^-, ou sous forme CH_3COO^- selon les cas, sur laquelle nous chromatographions 10 ml de solution de polyaldéhyde 0,005 M (50 micromoles)

Lorsque la résine se trouve sous forme acétate, l'effluent est récupéré et la colonne lavée avec 25 ml d'eau distillée. Effluent et eaux de lavage sont réunis, puis la quantité de polyaldéhyde est dosée par la méthode de l'hypoïodite.

Lorsque la résine se trouve sous forme basique, la colonne est lavée après fixation du polyaldéhyde, avec 100 ml d'eau distillée; l'élution est réalisée

avec 60 ml d'acide acétique 5 M. L'effluent est recueilli et la quantité de polyaldéhyde est évaluée par la méthode ci-dessus indiquée.

Les résultats obtenus avec les polyaldéhydes provenant de l'α-méthyl-D-glucopyranoside, du saccharose, du lactose et du maltose (le maltose et le lactose donnent le même tétraldéhyde) sont consignés dans le tableau n° 2.

TABLEAU N° 2

Pourcentage de polyaldéhyde retrouvé après passage sur Amberlite IRA400

Composés oxydés	Acétate	Basique
α-méthyl-D-glucopyranoside	92	60
saccharose	87	50
lactose	75	40
maltose	76	42

Il est à remarquer que la rétention est toujours inférieure à 25 % pour les essais réalisés sur la forme acétate de la résine.

La rétention est beaucoup plus grande pour la technique appliquée à la forme basique.

Il semble de plus, que ce pourcentage de réten-

tion soit fonction du temps de contact entre le polyaldéhyde et la résine.

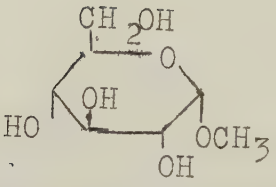
2/ Technique proposée

L'examen de tous ces résultats fait ressortir que la forme acétate de la résine IRA400 retient en totalité les dérivés oxygénés de l'iode, alors que son pouvoir de fixation vis-à-vis des polyaldéhydes est très restreint.

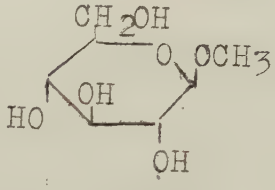
Ces diverses raisons nous ont donc amenés à mettre au point une technique d'isolement des polyaldéhydes utilisant la résine Amberlite IRA400 (CH_3COO^-). Ce protocole a été appliqué à la préparation des polyaldéhydes à partir des α et β -méthyl-D-glucopyranoside I, I bis, du mélibiose II, du lactose III, du saccharose IV, du raffinose V et du stachyose VI (tableau n° 2)

TABLEAU N° 3

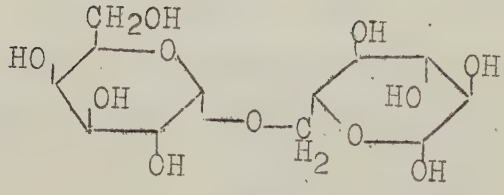
Configuration des osides oxydés.



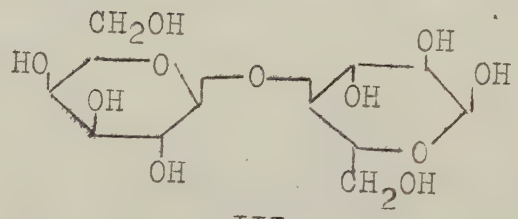
1



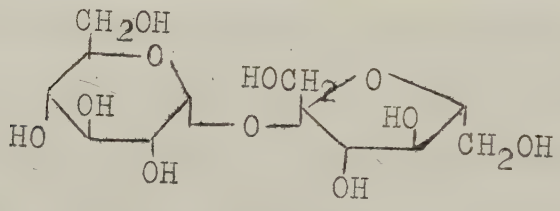
1 bis



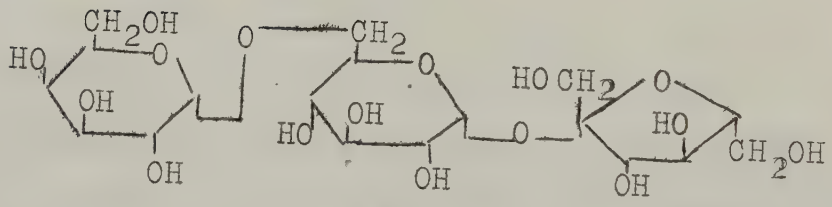
II



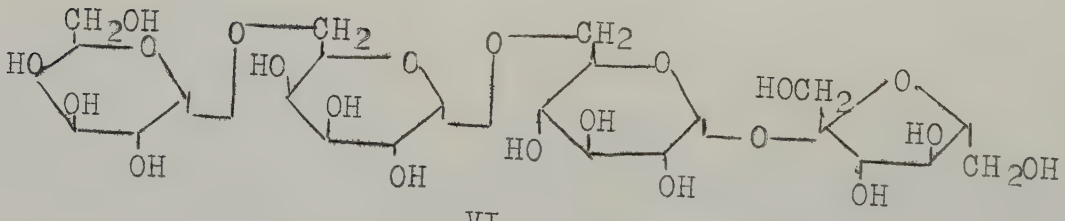
III



IV



V



VI

1 .α-méthyl-D-glucopyranoside
II .β-méthyl-D-glucopyranoside
III. mélibiose
IV . lactose
V . saccharose
VI . raffinose
VII. stachyose

(Nous n'avons fait ressortir que les positions des hydroxyles sans mentionner les atomes d'hydrogène)

Technique

A une température voisine à 20° et à l'obscurité, les oligosides en solution 0,1 M sont oxydés par un excès de solution d'acide periodique 0,05 M. Les quantités respectives de solutions mises en présence ainsi que le temps de contact varient d'un oligoside à l'autre. Le tableau n° 4 résume ces différentes conditions opératoires.

TABLEAU N° 4

Quantités d'acide periodique et d'osides mis en réaction.

Produits oxydés	ml. sol. 0,1 M d'osides	ml. sol. 0,05 M d'acide periodique nécessaire pour l'oxydation totale	ml. sol. 0,05 M d'acide periodique utilisé	Temps contact (en heures)
α-D-glucoside	25	100	150	24
β-D-glucoside	25	100	150	24
Melibiose	25	300	450	48
Lactose	25	250	375	48
Saccharose	25	200	250	72
Raffinose	25	250	375	72
Stachyose	25	350	500	72

Après le temps de contact indiqué, l'excès d'acide periodique et l'acide iodique formé sont éliminés par chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions, Amberlite IR400 (sous forme acétate) à raison de 2 ml de résine humide par milliéquivalent d'acide.

Pendant cette chromatographie, l'effluent est recueilli, puis les colonnes sont lavées à l'eau distillée jusqu'à ce que les eaux de lavage donnent une réaction à la touche négative avec le réactif à la β-naphtylamine.

Effluent et eaux de lavage sont mélangés et concentrés sous vide partiel (15 mm de Hg) à une température ne dépassant pas 45° jusqu'à un volume de 20 ml environ.

La dessiccation sous vide phosphorique de cette solution permet après environ 72 heures, la cristallisation spontanée des polyaldéhydes provenant des corps mentionnés dans le tableau N° 4.

La pureté de ces produits est vérifiée par chromatographie sur papier.

3°/ Constants physico-chimiques des composés originaux

TABLEAU N° 5

Constants physiques des polyaldéhydes étudiés.

Produits étudiés	Points de fusion °C-	Pouvoir rotatoire $(\alpha)_D$, (°)
Dα Glu	71	+ 124,8
Dβ Glu	90	- 116,3
Tmel	128	+ 67,7
Tlac	125	- 39,8
Tsac	162	+ 11,3
Hraf	159	+ 52,5
Osta	188	+ 81,3

TABLEAU N° 6

Composition centesimal des polyaldéhydes préparés

	Calculé			Trouvé		
	% C	% H	% O	% C	% H	% O
DαGlu	40,0	6,7	53,3	41,5	6,2	52,3
DβGlu	40,0	6,7	53,3	40,8	6,4	52,8
Tsac	38,3	5,9	55,8	39,5	5,5	55
Hraf	39,0	5,8	55,2	40,7	5,5	53,8
Osta	39,4	5,6	55,0	40,5	5,4	54,1
*Tmel	40,4	5,8	53,8	41,7	5,7	52,6
*Tlac	40,7	5,2	54,1	40,9	5,3	53,8

* La composition centesimal théorique des polyaldéhydes préparés à partir du mélibiose et du lactose est calculé en considérant qu'il n'intervient qu'une molécule d'eau dans la composition de chacune des molécules des polyaldéhydes

4°/ Conclusions.

Les études précédentes montrent que l'élimination des dérivés oxygénés de l'iode par précipitation sous forme de sels de baryum, n'est jamais totale. Par contre, les résines échangeuses d'anions, si elles permettent d'obtenir des solutions privées de tout ion minéral, peuvent retenir suivant leur nature et les conditions opératoires, des quantités variables de polyaldéhydes.

L'utilisation systématique de résine fortement basique sous forme acétate nous a permis de préparer avec un rendement particulièrement satisfaisant, de nombreux polyaldéhydes cristallisés. La pureté de ces produits se révèle excellente.

- : -

3ème PARTIE

==========

STRUCTURE DES POLYALDEHYDES

- : -

CHAPITRE N° 1

- : -

POLYALDEHYDES CONNUS EN SOLUTION.

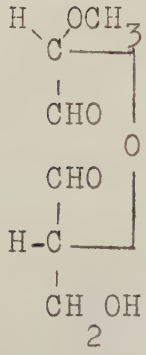
HYPOTHESES DE STRUCTURE ANTERIEUREMENT PROPOSEES

En 1953, HURD et Collaborateurs (41) constatent que les dialdéhydes qui résultent de l'action de l'acide periodique en excès sur les méthylpyranosides ne possèdent pas de fonction aldéhyde libre.

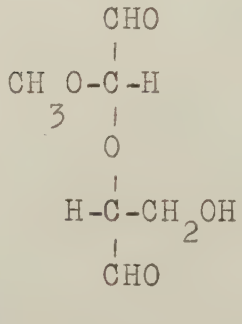
Ils proposent différentes formules possibles; les unes IV et V supposent une hydratation et une cyclisation de la molécule qui présente alors une structure p-dioxane.

TABLEAU N° 7

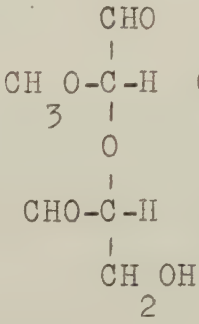
Structures possibles du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.



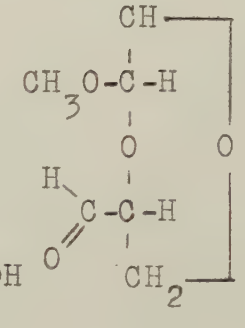
I



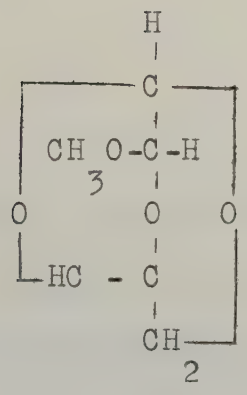
I bis



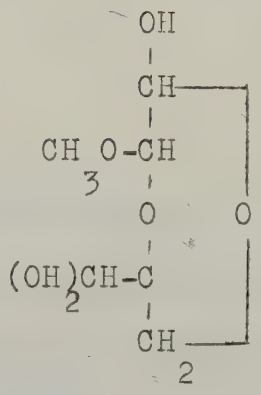
I ter



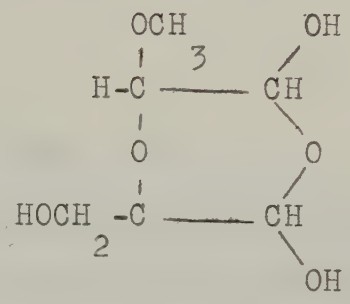
II



III



IV



V

Si l'on oxyde de la même manière les disaccharides réducteurs ou non réducteurs et en général les oligosaccharides, on obtient des polyaldéhydes qui présentent des caractères identiques, à l'exception du polyaldéhyde provenant de l'oxydation du mélibiose

Les fonctions aldéhydes réagissent soit entre elles, avec hydratation préalable, soit avec la fonction alcool primaire restée libre.

A la suite de ces travaux, de nombreux auteurs ont, par divers procédés, tenté de conformer ou d'infirmer cette hypothèse. Dans tous les cas, les composés à étudier sont préparés par action d'acide periodique sur l'oligoside correspondant en solution aqueuse; à partir de cette solution plus ou moins concentrée, certains dérivés des polyaldéhydes sont synthétisés.

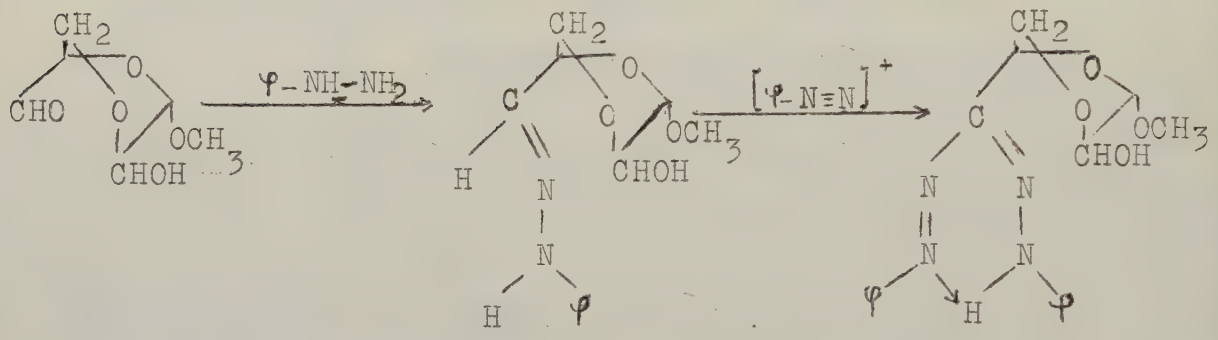
Les méthodes d'analyse peuvent être classées en deux groupes.

D'une part, il est possible de transformer par addition de différents réactifs, ces polyaldéhydes en produits aisément cristallisables. GOLDSTEIN et Collaborateurs (24) (28) préparent des dérivés méthyles en milieu chlorhydrique; ils démontrent la formation d'hemiacétals cycliques. MESTER et Collaborateurs, à partir de l'α-méthyl-D-glucopyranoside, préparent, par action de la phénylhydrazine et condensation du produit résultant avec l'aniline diazotée, le rouge de monoformazan (53) (55) (tableau n° 8) Ils admettent, de ce fait, l'existence d'une fonction aldéhyde libre,

et en déduisent que la deuxième fonction aldéhyde est combinée à la fonction alcool primaire pour donner un hemiacétal. Le tétraldéhyde du saccharose donne des réactions identiques (54) : ils donnent une interprétation similaire de la structure de ce composé.

TABLEAU N° 8

Formation monoformazan



Certains atomes de carbone nucléaires dont l'emplacement est évident, ne sont pas signalés pour alléger les schémas.

Enfin, BAER et Collaborateurs, en utilisant l'action cyclisante du nitrométhane, arrivent à des conclusions identiques avec les dialdéhydes des α-méthylpentopyranosides (5) (6) et de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (7).

D'autre part, de nombreux autres travaux reposent sur la réduction des groupements aldéhydes par des moyens variés : réduction totale ou réduction sélective en polyalcool et étude de ces alcools.

L'utilisation du borohydrure de sodium permet une réduction totale des polyaldéhydes; l'α-méthyl-D-glucopyranoside conduit à un triol dont les trois fonctions alcool sont primaires (2) (64) (48).

Le même réactif permet à HAMILTON et Collaborateurs l'étude du tétraldéhyde du β-méthyl-lactoside et du β-méthyl cellobioside (35), ainsi que celle du polyaldéhyde provenant de l'oxydation periodique de l'amylopectine (33) (27). KHYM et COHN (46) appliquent la même technique aux produits d'oxydation de l'α-méthyl-D-xylopyranoside et de l'α-méthyl-D-glucopyranoside. Plusieurs auteurs réduisent par le même procédé le polyaldéhyde de la cellulose (1) (52) (37) (22) (68).

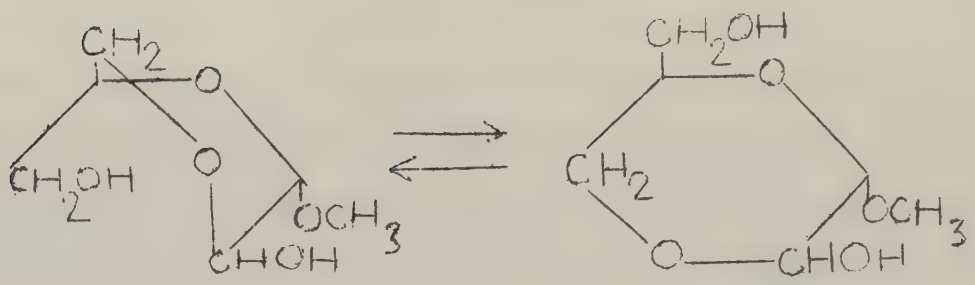
Mais la réduction totale peut être aussi obtenue par l'utilisation du nickel-Raney; c'est ainsi que SMITH et VAN CLEVE (64) en atmosphère d'hydrogène réduisent les dialdéhydes des méthyl-D-hexopyranosides et méthyl-L-arabopyranosides.

L'utilisation d'un catalyseur à base de charbon et de palladium pour l'hydrogénation du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside permet à CADOTTE et Collaborateurs (10) d'obtenir une réduction totale de ce composé et à GOLDSTEIN et SMITH (25) d'effectuer une réduction partiel-

le. Cette dernière, suivie d'une méthylation par l'iodure de méthyle en présence d'oxyde d'argent, semble indiquer qu'il existe un équilibre entre deux isomères dont la formule est indiquée dans le tableau n° 9.

TABLEAU N° 9

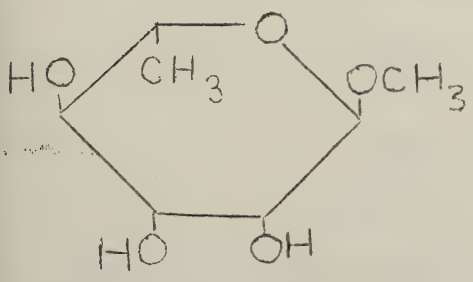
Isomères en équilibre.



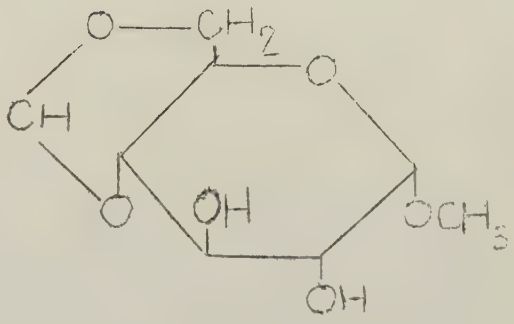
Une autre série de travaux a été effectuée sur des composés dont la fonction alcool primaire est, soit remplacée par un radical méthyl (α-méthyl-D-rhamnopyranoside), soit bloquée par fixation d'un radical benzylidène plus ou moins substitué α- et β-4-6-ortho-benzylidène-D-glucoside (3) (26) (32) (61) (4) (31), α-4-6-ortho-benzylidène-D-galactoside, -D-guloside (40), -D-mannoside et α-méthyl-3-amino-4-6-ortho-benzylidène-3-desoxy-D-altroside (32), α-4-6-ortho (2-3-dichlorobenzylidène) -D-glucoside et α-méthyl-4-6-ortho-(2-3-dibromobenzylidène) -D-glucoside (12). Tableau n° 10

TABLEAU N° 10

∝-méthyl-rhamnopyranoside



∝-4-6-ortho-benzylidène-
-D-glucopyranoside

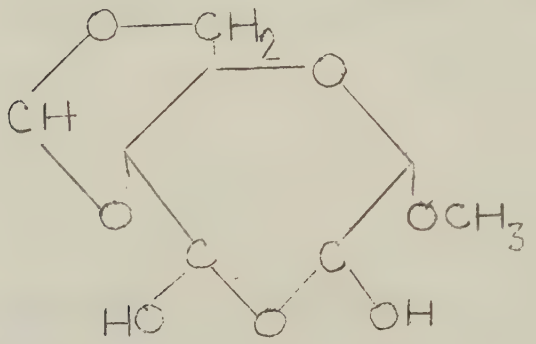


Le dialdéhyde du rhamnopyranoside n'est pas réduit par l'hydrogène en présence de charbon-palladium (10) (11) : ceci prouve la formation d'un hemialdal. Ce dialdéhyde est d'ailleurs le seul qui a été jusqu'ici obtenu cristallisé. L'étude du spectre infra-rouge a confirmé l'absence de fonction aldéhyde libre et l'existence de fonctions hydroxyles (23) (69)

Tous les travaux effectués sur ces dérivés ne possédant plus de fonctions alcools primaires (ce qui élimine la possibilité de combinaison des fonctions aldéhydes avec la fonction alcool primaire existant dans le cas des méthyl-osides non substitués) admettent la formation d'un hemialdal tableau n° 11.

TABLEAU N° 11

hemialdal de l'α-4-6 ortho-benzylidène-D-glucopyranoside.



Contrairement aux oligosides, les polyosides de haut poids moléculaire conduisent à des polyaldéhydes obtenus cristallisés. L'étude des spectres infra-rouges de ces composés sont en accord avec l'hypothèse suivant laquelle il n'existe pas de fonctions aldéhydes libres (17) (39) (57) (61) (64) (65).

La plupart de ces études ayant été effectuées sur des solutions aqueuses et les résultants de ces études donnant lieu suivant les auteurs à des interprétations diverses, il nous a semblé intéressant de réenvisager le problème à partir de quelques polyaldéhydes obtenus cristallisés.

a/ Dosage de fonctions aldéhydes libres

Les solutions de fuchsine "basique" sont un mélange de chlorhydrates de rosaniline et de pararosaniline décoloré par l'anhydride sulfu-

reux, libre ou sous forme de bisulfite (réactif de Schiff). Ces solutions sont recolorées en rouge violacé par les aldéhydes. La vitesse d'apparition de la teinte et son intensité sont directement liées à la quantité d'aldéhyde mise en oeuvre.

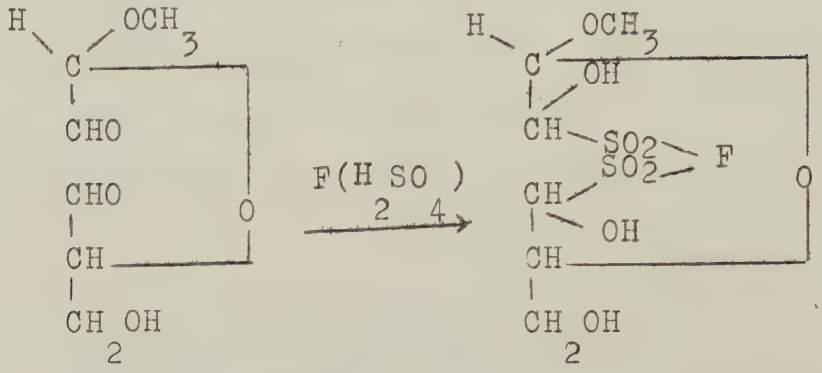
Les auteurs sont à peu près unanimes pour affirmer qu'un excès de gaz sulfureux diminue la sensibilité, mais jugent souvent avantageux d'ajouter de l'acide chlorhydrique ou sulfurique au réactif pour éviter la recoloration spontanée (15) (47)

On doit attribuer la coloration à la formation d'un produit de condensation de la fuchsine bisulfitée avec un composé aldéhydique.

Le mécanisme de la réaction peut être schématisé de la façon suivante (Tableau n° 12) (49)

TABLEAU N° 12

Mécanisme de la Réaction de Schiff.



Le protocole utilisé a été décrit page n° 31

Cependant, l'action de ce réactif particulièrement sensible pour la détection des fonctions aldéhydes, donne avec nos produits, des résultats indiquant l'existence de très faibles quantités d'aldéhydes libres, à l'exception du trialdéhyde du mélibiose.

TABLEAU N° 13

Nombre de fonctions aldéhydes libres par molécule de polyaldéhyde.

	Calculé	Trouvé	Rapport de la quantité trouvée à la quantité calculée (p.100)
DαGlu	2	0,01	0,5
DβGlu	2	0,01	0,5
Tmel	3	1,01	33,7

.../

.../

	Calculé	Trouvé	Rapport de la quantité trouvée à la quantité calculée (p.100)
Tlac	4	0,05	1,25
Tsac	4	0,02	0,5
Hraf	6	0,09	1,5
Osta	8	0,40	5

Le tableau n°13 résume d'une part (1ère colonne) le nombre de fonctions aldéhydes libres par molécule de polyaldéhyde considérée sous forme linéaire sans hydratation, d'autre part (2ème colonne) le nombre de fonctions aldéhydes réèllement libres. Le rapport entre ces deux valeurs (3ème colonne) est hautement significatif; il indique qu'il existe un équilibre entre les molécules présentant des fonctions aldéhydes libres et les molécules ne possédant pas de carbonyle libre; cet équilibre est fortement déplacé en faveur de ces derniers.

Il est donc possible d'admettre qu'il n'existe pas de fonction aldéhyde libre à l'exception du trialdéhyde du mélibiose; cette conception est en accord avec le fait qu'aucun de ces composés n'est capable de réduire les métaux lourds dans les conditions habituelles de dosage des aldéhydes. D'ailleurs, HURD et Collaborateurs (41) en utilisant des techniques polarographiques n'ont pû retrouver

pour l'α-méthyl-D-glucopyranoside que des quantités minimes d'aldéhyde libre.

b/ Détermination des poids moléculaires

La technique employée est décrite page n°32 ; la concentration des solutions en polyaldéhydes et les résultats enregistrés sont consigné dans le tableau n° 14.

TABLEAU N° 14

Détermination des poids moléculaires

Produits	c g/100ml	Δ t(°C)	Poids moléculaire
Dαglu	3	- 0,322	172
Dβglu	3	- 0,317	175
Tmel	2	- 0,156	236
Tlac	3	- 0,200	276
Tsac	3	- 0,162	342
Hraf	3	- 0,115	482
Osta	3	- 0,085	652

Il est évident que le poids moléculaire de ces composés cristallisés et séchés sous vide phosphorique, augmente en fonction du nombre de molécules d'eau dans leur composition.

Dans le tableau n° 15, sont consignés, d'une part, les poids moléculaires calculés à partir du produit considéré sous forme d'hydrate, d'autre

part, les poids moléculaires trouvés et enfin le nombre de molécules d'eau correspondant à la structure envisagée.

TABLEAU N° 15

Poids moléculaire et degré d'hydratation

Produits	Poids moléculaire		Molécules d'eau
	Calculé	Trouvé	
D glu	180	172	1
D glu	180	175	1
Tmel	226	236	2
Tlac	272	276	3
Tsac	344	342	2
Hraf	492	482	3
Osta	640	652	4

Ces résultats nous permettent de penser qu'aucun de ces polyaldéhydes ne présente de fonction aldéhyde libre, mais que celles-ci sont engagées, soit sous forme d'hemiacétal, soit sous forme d'hydrate.

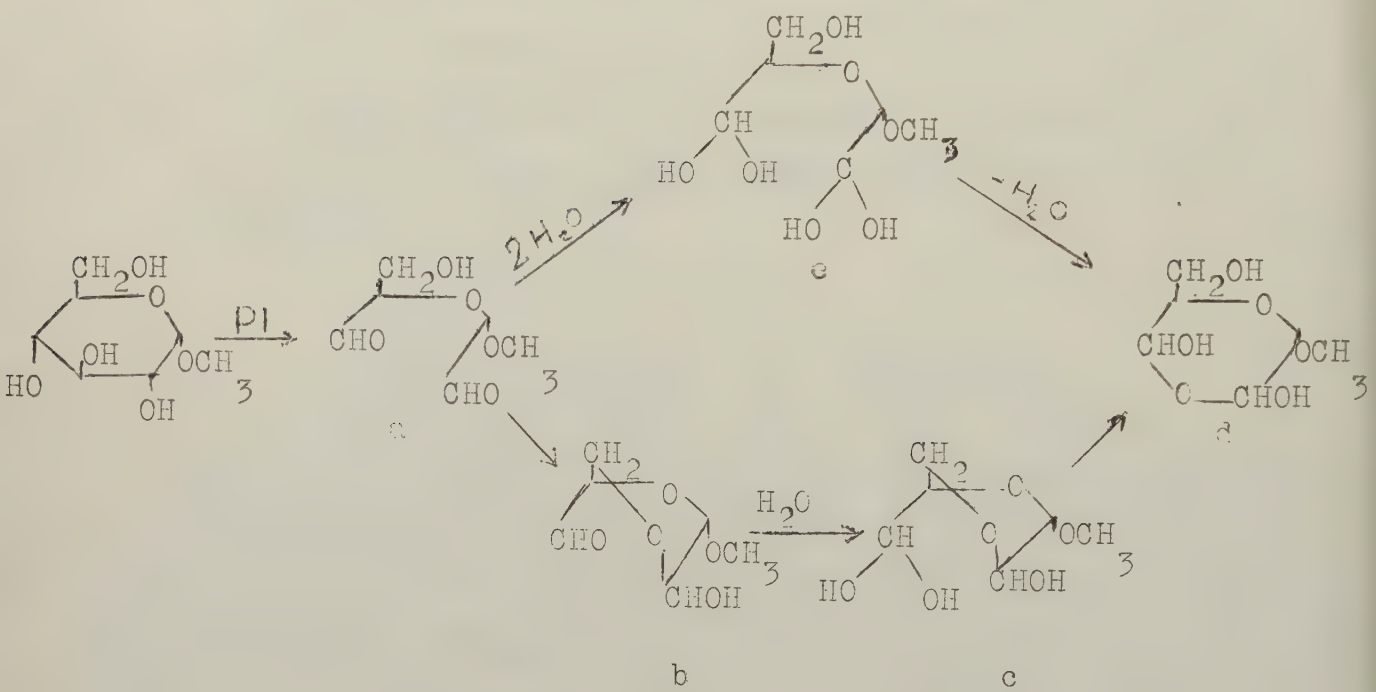
c/ Discussion des résultats

Dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.

La réaction d'oxydation de l'α-méthyl-D-glucopyranoside peut être schématisée de la façon suivante : Tableau n° 16.

TABLEAU N° 16

Mécanisme d'oxydation de l' -méthyl-D-glucopyranoside.



Dans un premier temps, l'acide periodique rompt les liaisons ∝-glycole en libérant une molécule de dialdéhyde qui, aussitôt formée, se cyclise suivant deux réactions possibles.

a - Réaction II. Les deux fonctions aldéhydes s'hydratent avec deux molécules d'eau; ces hydrates réagissent entre eux avec élimination d'une molécule d'eau pour donner le composé final à structure p-dioxane.

b - Réaction II bis. Une des fonctions aldéhydes réagit sur la fonction alcool primaire qui n'a pas été oxydée en donnant un hémiacétal à structure p-dioxane

La fonction aldéhyde restée libre s'hydrate alors et une transposition fournit un composé dont la structure est identique à celle qui a été obtenue par la réaction II.

Le mécanisme II nous semble être le plus vraisemblable : il est seul en accord avec le fait que l'∝-méthyl-D-rhamnopyranoside (23) donne une structure p-dioxane.

L'examen comparatif des spectres infra-rouges (I.R) de l'∝-méthyl-D-glucopyranoside et du dialdéhyde correspondant (en suspension dans le Nujol x) pour les fréquences comprises entre 1 350 à 2 750 cm^{-1}, ne présente pratiquement aucune différence; on peut toutefois remarquer l'apparition d'une bande d'absorption très peu intense, pour les fréqences voisines de 1 700 cm^{-1} fréquences pour lesquelles devrait se trouver une très forte bande d'absorption s'il existait des fonctions carbonyles libres dans la molécule de dialdéhyde, Tableaux n° 17 et 18.

---

x Nujol : Nom commercial d'une huile de paraffine spécialement purifiée.

TABLEAU N° 17

Spectre I.R. de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (Nujol)

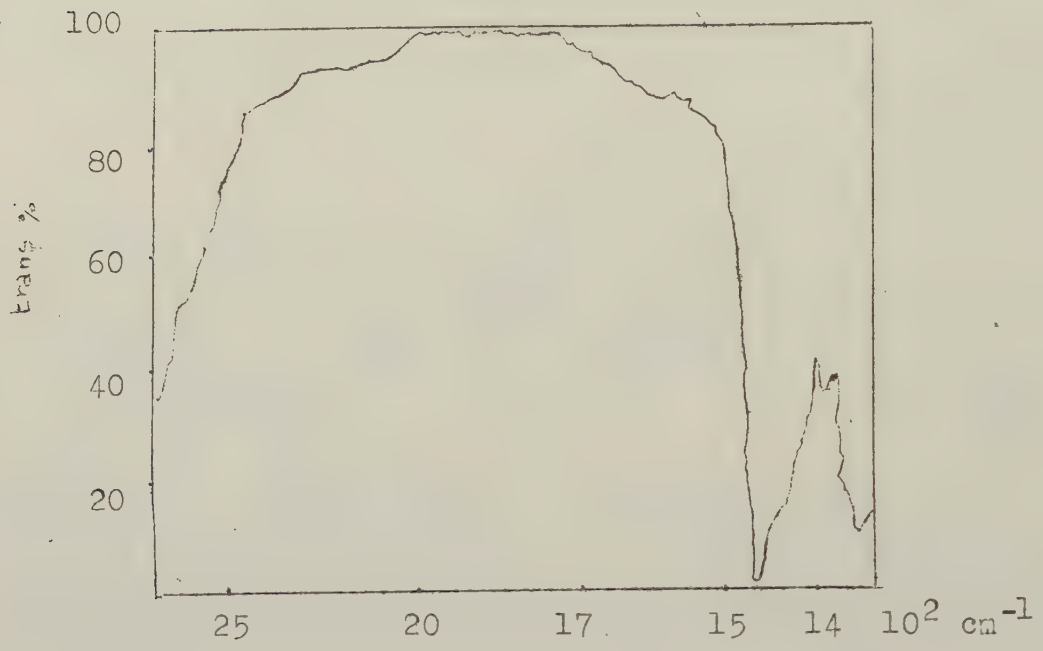
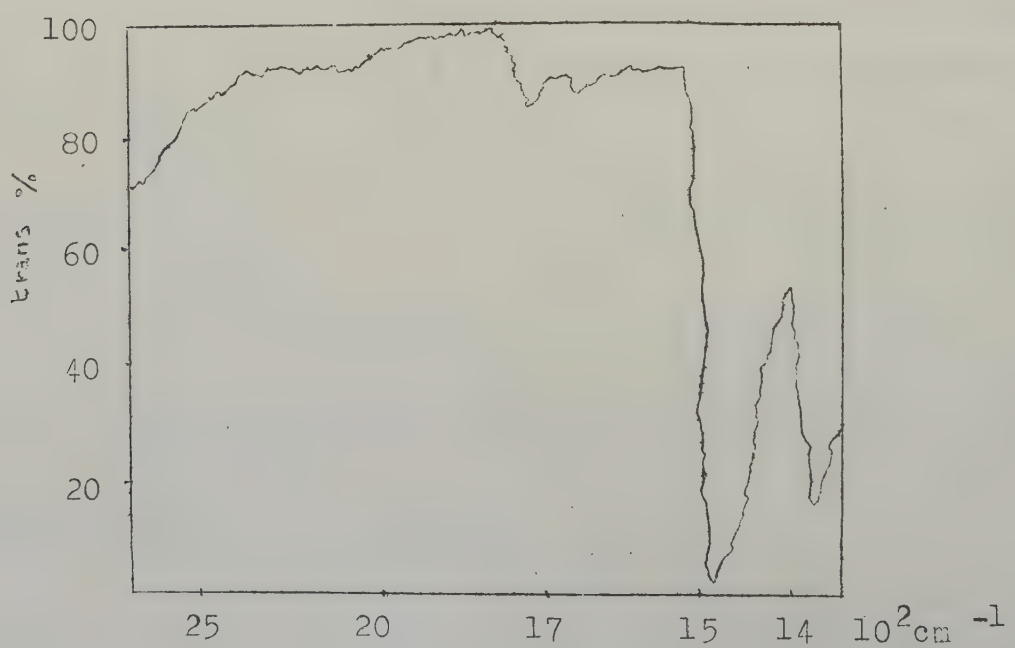


TABLEAU N° 18

Spectre I.R du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (Nujol)

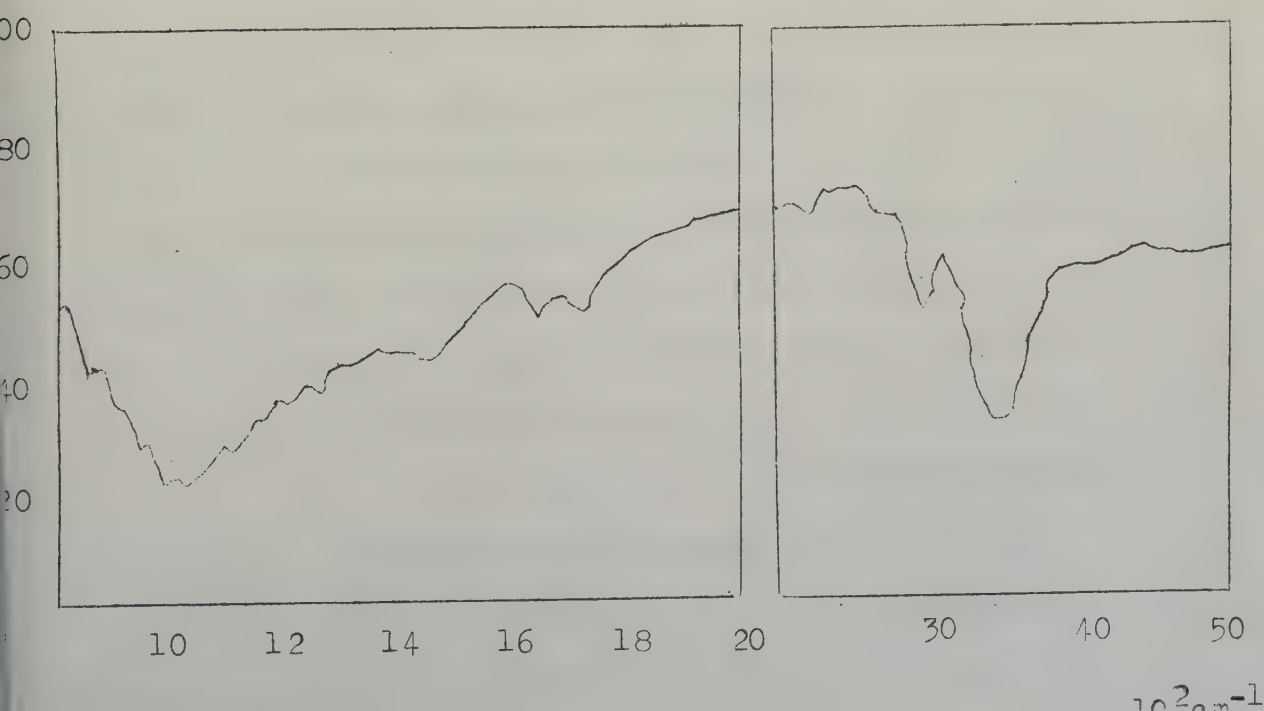


L'examen des spectres I.R. obtenus sur des produits d'oxydation de la cellulose (34) (61) sont en accord avec ces conclusions.

La répétition du spectre I.R. du dialdéhyde en pastille de KBr confirme l'existence de fonctions alcools primaires et secondaires : celles-ci donnent d'intenses bandes d'absorption pour les fréquences de 1050 et 1100 cm^{-1}; ce spectre révèle en outre la présence de ponts d'hydrogène entre les différents groupements hydroxyles, présence mise en évidence par les larges bandes d'absorption apparaissant pour les fréquences voisines de 3500 cm^{-1}, tableau n° 19 .

TABLEAU N° 19

Spectre I.R. du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (KBr)



Ces diverses considérations laissent néanmoins supposer l'existence d'un équilibre entre plusieurs formes, équilibre très fortement déplacé en faveur du composé à structure p-dioxane qui ne possède pas de fonctions aldéhydes libres (structure e dans le tableau n° 16).

Cette hypothèse est, en particulier confirmée par la réaction de SCHIFF peu intense que donne ce composé. Elle permet d'expliquer les résultats obtenus par MESTER et Collaborateurs (53) (54) (55) qui ont réussi à préparer le monoformazan sans doute par déplacement de cet équilibre vers la forme indiquée (structure c; tableau n° 16) sous l'action du réactif entrant en combinaison avec le carbonyle.

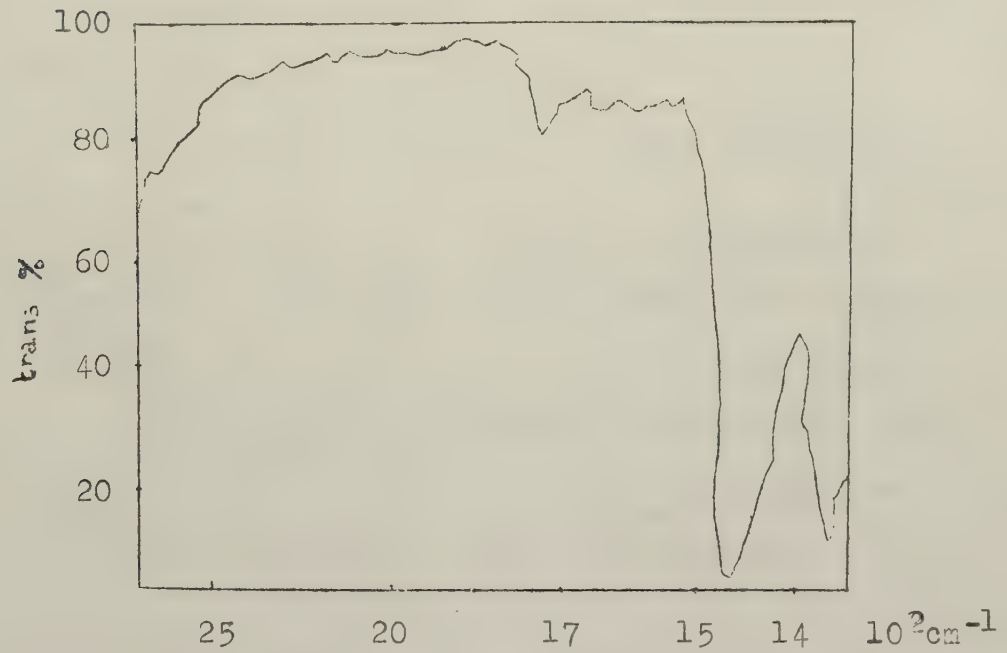
Dialdéhyde du β-méthyl-D-glucopyranoside

La structure du β-méthyl-D-glucopyranoside ne diffère, de celle du dérivé α, que par l'orientation du groupement méthoxy qui se place en eis par rapport au groupement alcool primaire dans le dérivé β, alors qu'il est en trans dans le dérivé α. Cette position se trouve inchangée dans le dialdéhyde et n'influence en rien, à l'exception du pouvoir rotatoire, le comportement de ce composé par rapport au dialdéhyde précédemment étudié.

Les résultats fournis par le réactif de SCHIFF et la mesure du poids moléculaire sont identiques; les spectres infra-rouges sont superposables (tableau N°20)

TABLEAU N° 20

Spectre I.R. du dialdéhyde du β-méthyl-D-glucopyranoside (Nujol)



Les hypothèses et conclusions formulées plus haut restent entièrement valables et seules, les caractéristiques physiques diffèrent.

Tétraldéhyde du saccharose

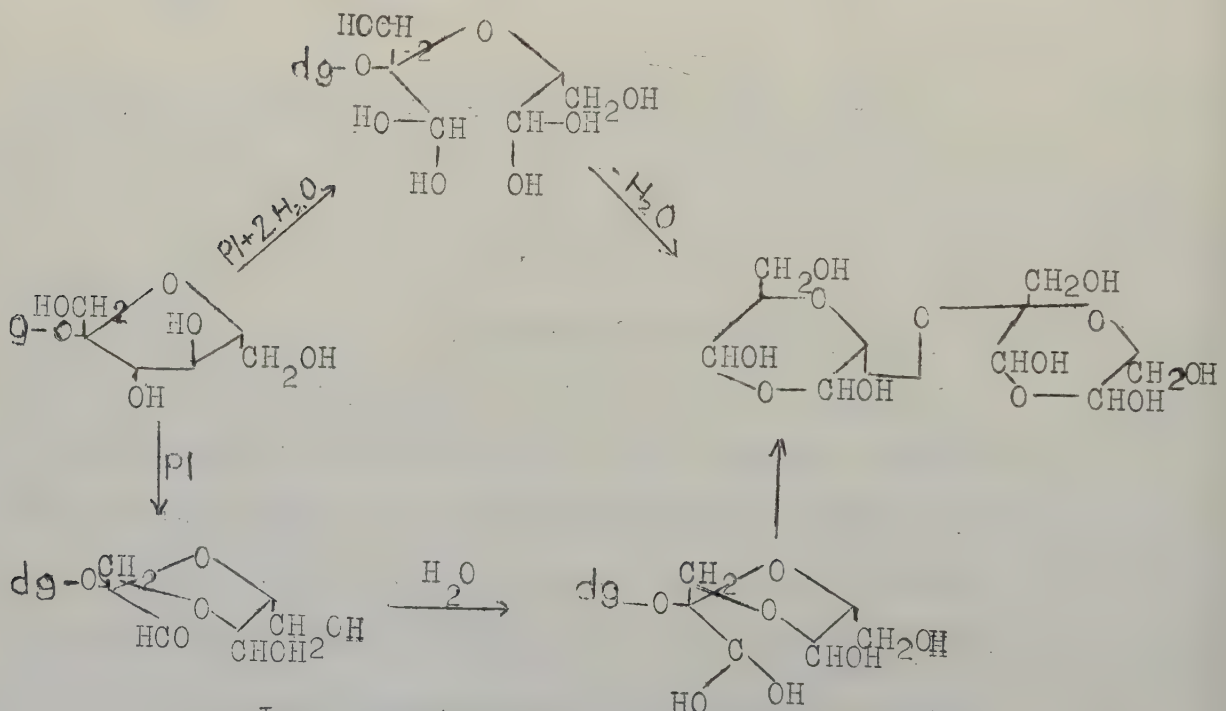
Le saccharose résulte de l'enchaînement d'une molécule de glucose sous forme pyranique à une molécule de fructose sous forme furanique; la liaison s'effectue entre le carbone 1 du glucose et le carbone 2 du fructose. Ce diholoside peut être considéré comme résultant du remplacement du groupement méthyle d'une molécule d'∝-méthyl-D-glucopyranoside par une molécule de fructofuranose.

Le mécanisme d'oxydation d'un tel composé est pour l'unité glucose identique à celui qui a été envisagé pour le méthyl-D-glucopyranoside; l'unité fructose conduit à un composé à structure p-dioxane d'une constitution très voisine de la précédente. La réaction est schématisée dans le tableau n° 21.

Dans celui-ci, nous ne mentionnons que les réactions pouvant intéresser l'unité fructose, étant entendu que l'unité glucose réagit suivant le processus qui a été proposé pour le méthyl-glucopyranoside.

TABLEAU N° 21

Mécanisme d'oxydation du saccharose.



Le comportement de l'unité fructose est très voisin de celui de l'unité glucose puisque la réaction de Schiff indique pour ce tétraldéhyde une quantité d'al

déhyde libre double de celle qui a été trouvée pour le dialdéhyde du méthyl-D-glucopyranoside; ceci était prévisible puisqu'il est attribué à ce tétraldéhyde une structure à deux cycles p-dioxane, alors que le dialdéhyde ne possède qu'un cycle .

Sur les mêmes principes peuvent être interprétés les résultats fournis par la cryoscopie, indiquant la présence de deux molécules d'eau (une pour les dialdéhydes).

Les conclusions tirées de l'examen comparatif des spectres infra-rouges du saccharose (suspension Nujol) (tableau n° 23) et de son tétraldéhyde (suspension Nujol et pastille de KBr) (tableaux n° 24 et 22)sont identiques à celles qui ont été exposées lors de l'étude des dialdéhydes, des α et β -méthyl-D-glucopyranosides.

TABLEAU N° 22

Spectre I.R du tétraldéhyde du saccharose (KBr)

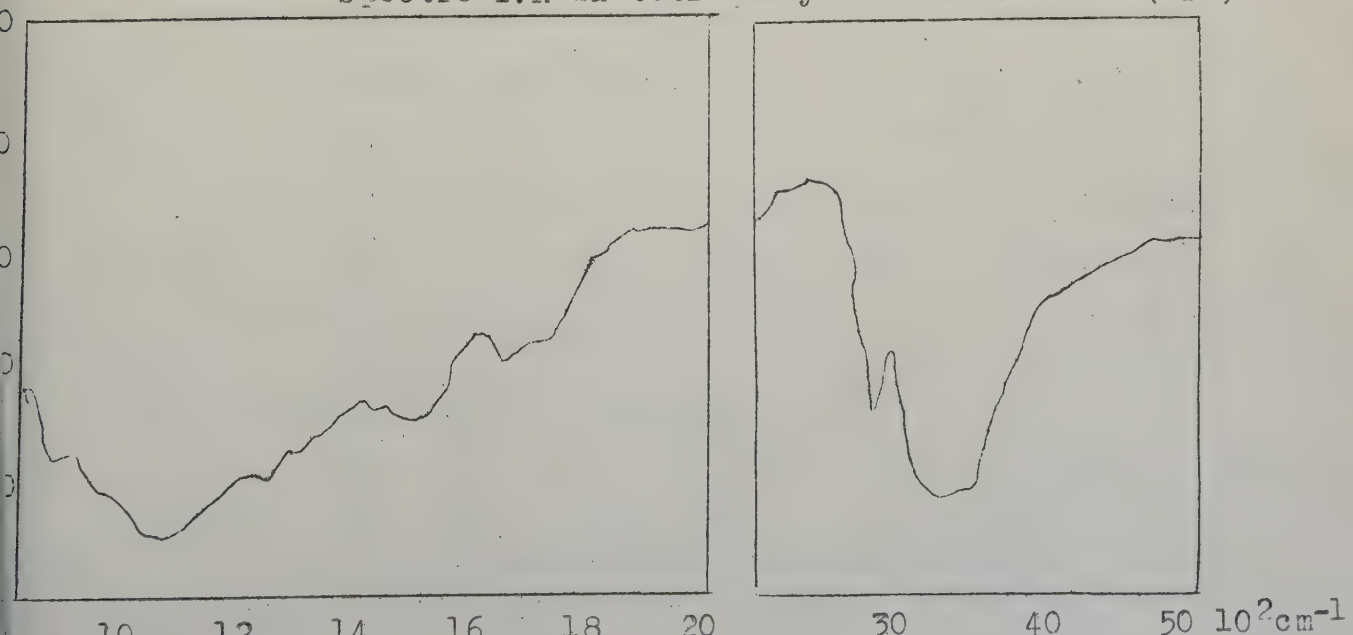


TABLEAU N° 23

Spectre I.R du Saccharose (Nujol)

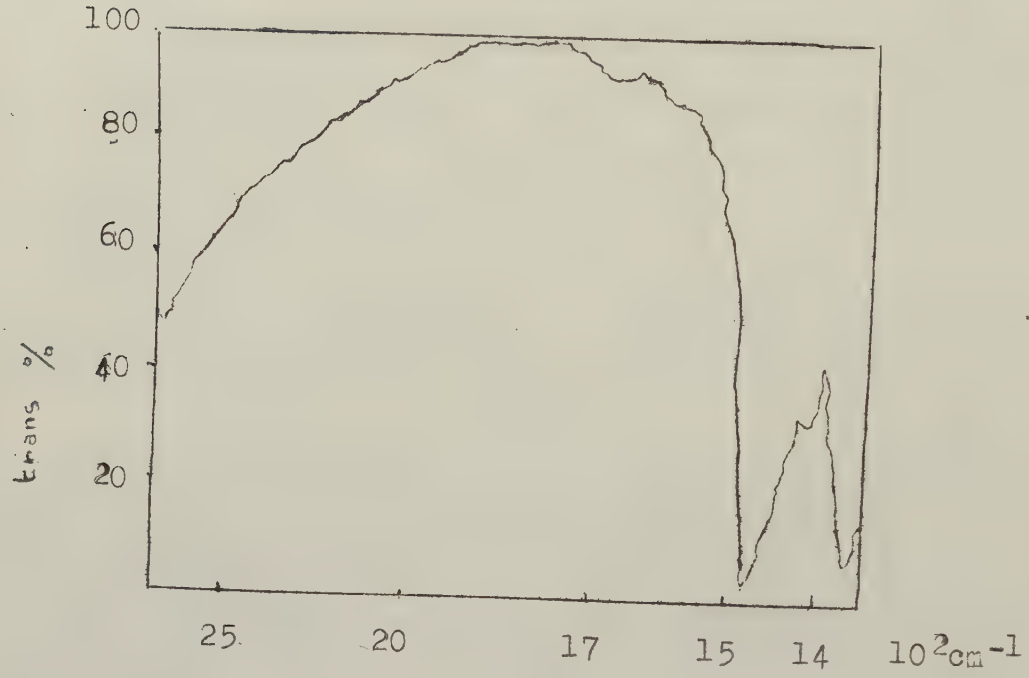
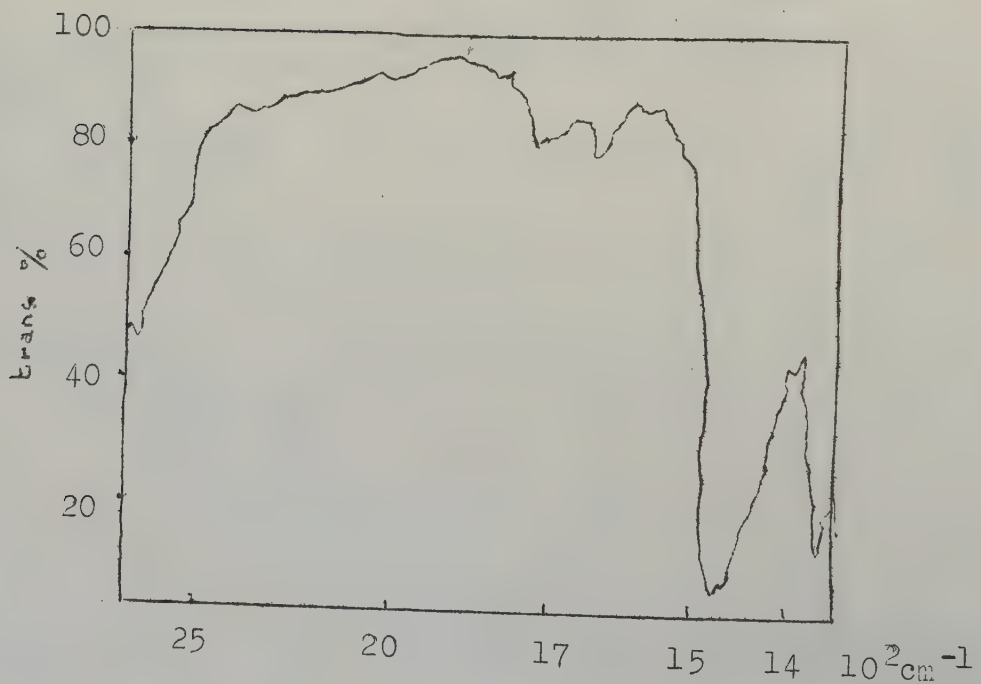


TABLEAU N° 24

Spectre I.R du Tétraldéhyde du saccharose (Nujol)



Galactoside du saccharose (Raffinose et Stachyose)

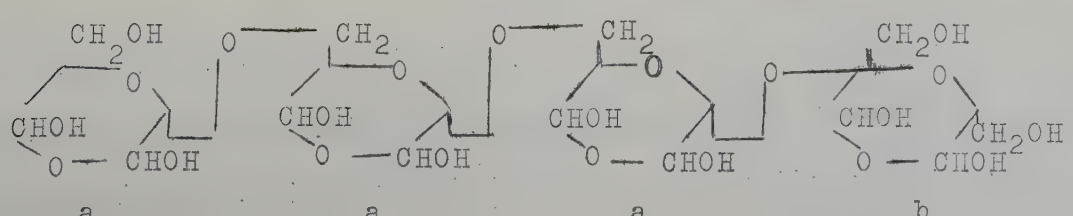
Le raffinose dérive du saccharose par fixation d'une molécule de galactose sur le carbone 6 de la molécule de glucose. C'est donc un galactoside 1→6 - saccharose. Par analogie, le stachyose est un galactoside 1→6 galactosido 1→6 — saccharose.

Ces deux sucres peuvent schématiquement être considérés comme résultants de l'enchainement d'une ou deux molécules de galactose a une molécule de saccharose.

Ainsi donc, l'oxydation de l'unité saccharose s'effectue comme nous l'avons indiqué au paragraphe précédent et les unités galactose s'oxydent séparément comme une molécule de méthyl-galactopyranoside. Or, le méthyl-D-galactopyranoside par oxydation periodique donne naissance a un dialdéhyde dont la structure est identique à celle du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.

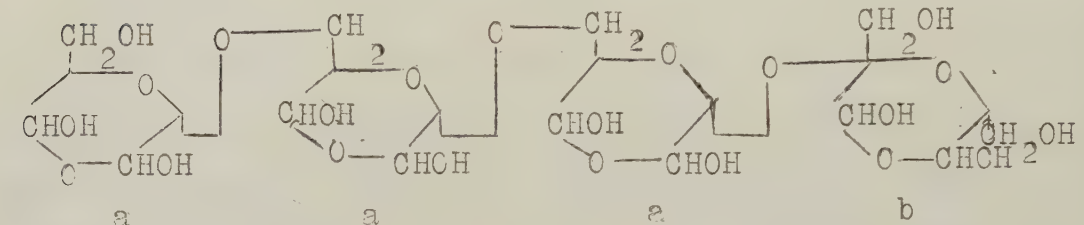
La structure de l'hexaldéhyde de raffinose (tableau n° 25) peut être représentée comme résultant de l'enchainement de 2 molécules de dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (a) et d'une molécule de dialdéhyde du fructofuranoside (b)

TABLEAU N° 26 Structure de l'hexaldéhyde du raffinose.



La structure de l'octaldéhyde du stachyose (tableau n° 26) peut être schématisée comme l'enchainement de trois molécules de dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (a) et d'une molécule du dialdéhyde du fructofuranoside (b)

TABLEAU N° 26 Structure de l'octaldéhyde du stachyose.



a a a b

Les structures proposées nous permettent, compte tenu des résultats donnés par la réaction de Schiff pour les polyaldéhydes du méthyl-D-glucopyranoside et du saccharose, de prévoir le pourcentage de fonctions aldéhydes libres pour les polyaldéhydes du raffinose et du stachyose. Les résultats expérimentaux ne sont pas totalement en accord avec ce pronostic; la divergence est d'autant plus grande que la chaine s'allonge, ce qui permet d'envisager un léger déplacement de l'équilibre vers les composés présentant des fonctions aldéhydes libres.

Il est évident que ce déplacement est relativement minime puisque nos résultats tendent à prouver que 1,5 p.100 pour le hexaldéhyde du raffinose et 5. p.100 pour l'octaldéhyde du stachyose ne présentent pas la structure précédemment proposée.

Le calcul des poids moléculaires et les examens des spectres infra-rouges sont en parfait accord avec cette interprétation; il n'existe en effet, pratiquement

aucune différence entre les spectres infra-rouges des osides et des polyaldéhydes correspondants pour les fréquences étudiées (entre 1350 et 2750 cm^{-1}) (Tableaux n° 27,28,29,30)

TABLEAU N° 27 Spectre I.R. du raffinose (Nujol)

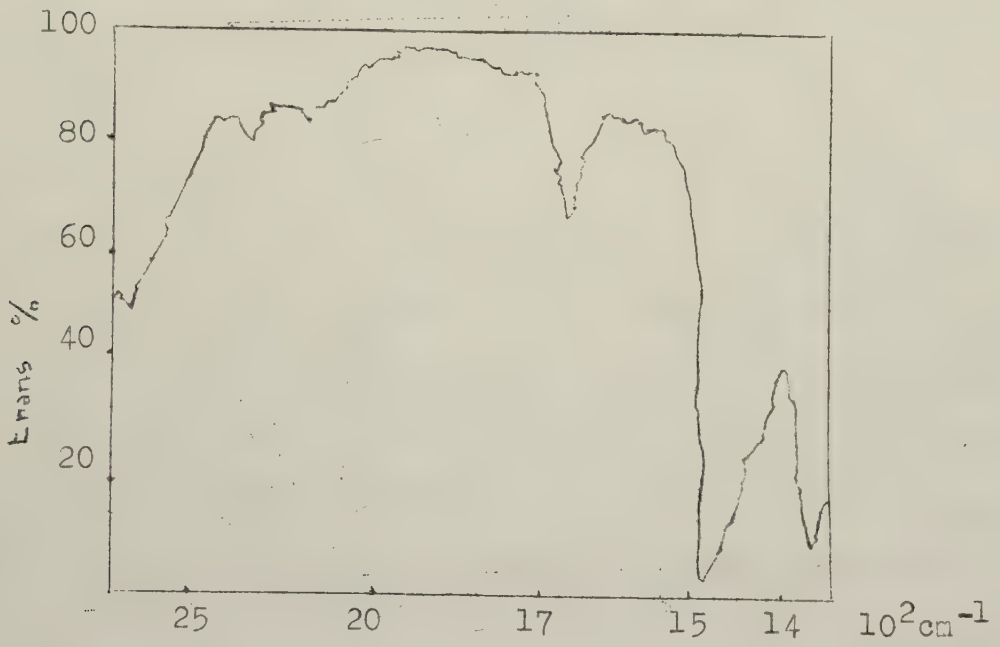


TABLEAU N° 28

Spectre I.R. de l'hexaldéhyde du raffinose (Nujol)

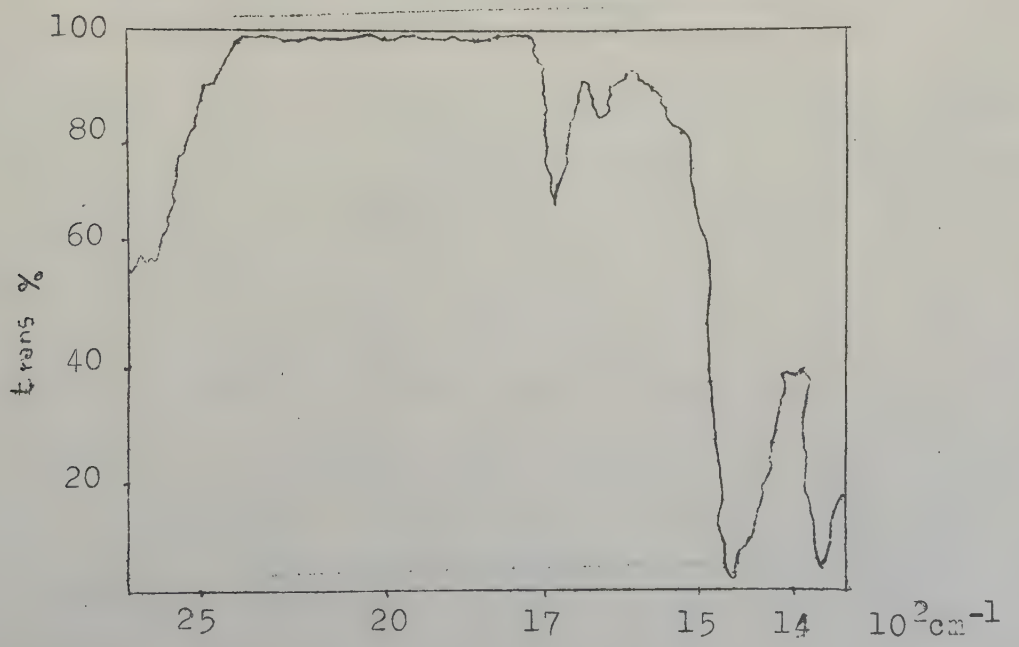


TABLEAU N° 29

Spectre I.R. du stachyose (Nujol)

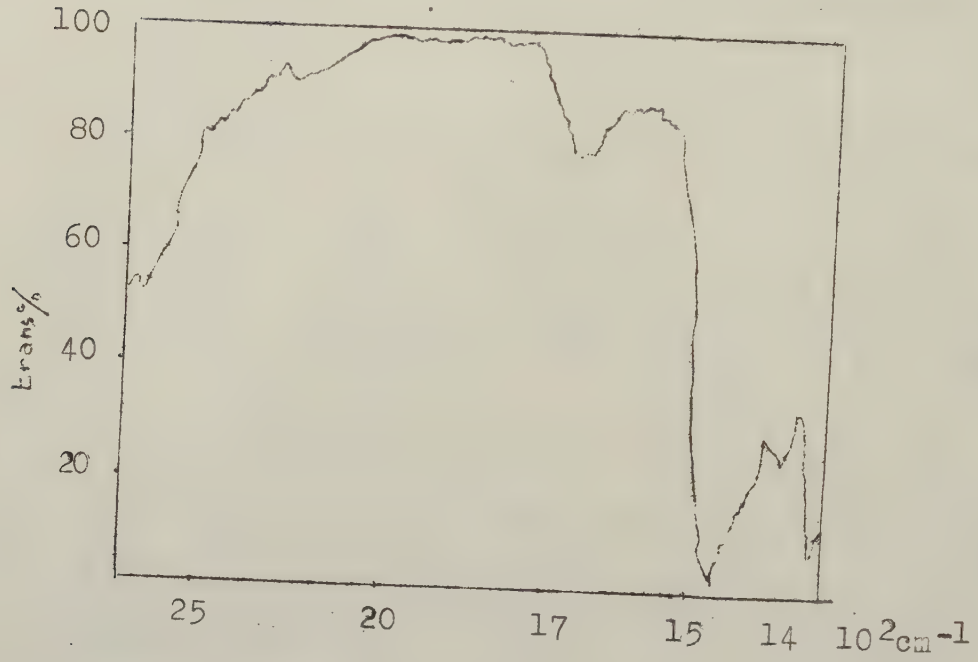
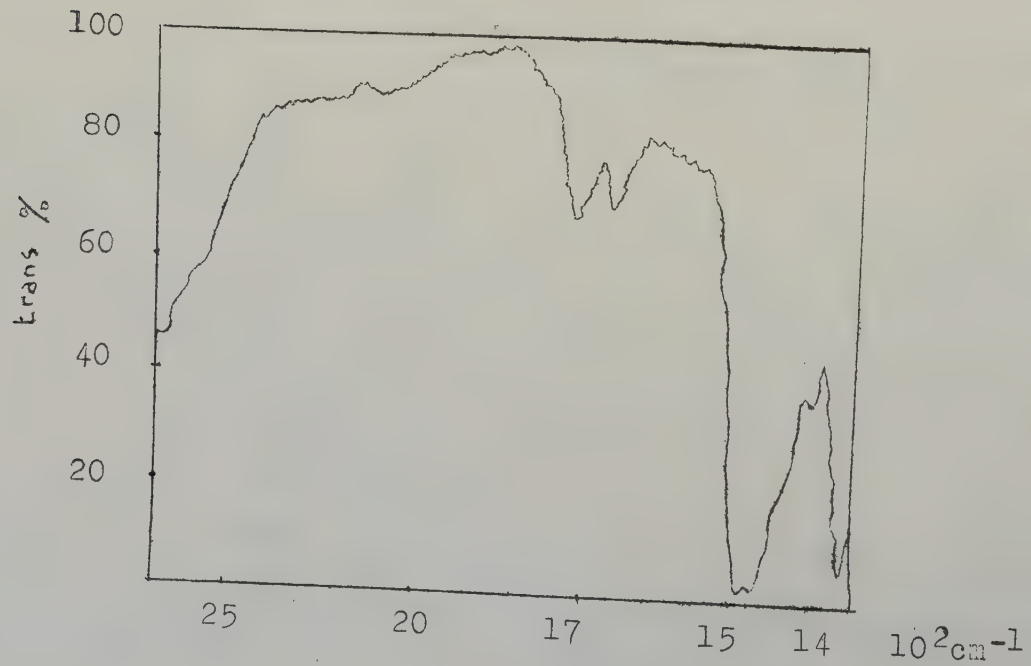


TABLEAU N° 30

Spectre I.R. de l'octaldéhyde du stachyose (Nujol)



CONCLUSIONS :

L'oxydation par l'acide periodique des méthylosides et oligosides non réducteurs donne naissance à des polyaldéhydes qui s'hydratent et se cyclisent pour donner des composés présentant une structure p-dioxane. Il est néanmoins certain qu'il existe un équilibre entre plusieurs formes mais cet équilibre en solution aqueuse est pratiquement totalement déplacé vers les composés à structure p-dioxane. Ainsi donc, on peut schématiser la structure d'un polyaldéhyde formé par oxydation d'un oside contenant n molécules d'ose, comme l'enchainement de n unités de dialdéhyde à structure p-dioxane incluant une molécule d'eau par molécule de dialdéhyde. Ces unités de dialdéhyde ont une structure cyclique comparable à celle du dialdéhyde du méthyl-glucopyranoside.

Diholosides réducteurs (mélibiose et lactose)

Ces deux diholosides se composent d'une unité galactose dont le carbone 1 est engagé dans la liaison osidique et d'une unité glucose qui est liée à l'unité précédente, soit par le carbone 4 (lactose) soit par le carbone 6 (mélibiose).

L'unité galactose dans les deux cas, se comporte comme le méthyl-glucopyranoside. L'unité glucose dont le carbone 1 ne supporte pas de liaison osidique s'oxyde comme si la chaine était linéaire avec formation d'une

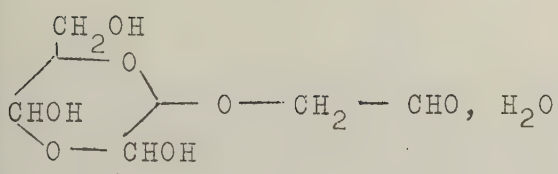
(mélibiose) ou deux (lactose) fonctions aldéhydes. Ces fonctions aldéhydes s'hydratent et les composés qui en résultent sont plus ou moins stables suivant leur aptitude à former des ponts hydrogène.

La réaction avec le réactif de Schiff montre que les polyaldéhydes obtenus par oxydation du lactose ne présentent pratiquement pas de fonction aldéhyde libre : en effet, le dialdéhyde provenant de l'unité glucose a une structure de dialdéhyde malonique; le dihydrate est stabilisé par la présence de l'atome d'oxygène lié au carbone 2 et par la formation facile de ponts hydrogène. Pour le mélibiose, l'aldéhyde correspondant est du type acétaldéhyde et il n'existe pas de possibilité de stabilisation comme dans le cas précédent; ceci explique l'instabilité de ce composé et le fait que le réactif de Schiff révèle une fonction aldéhyde libre par molécule de trialdéhyde.

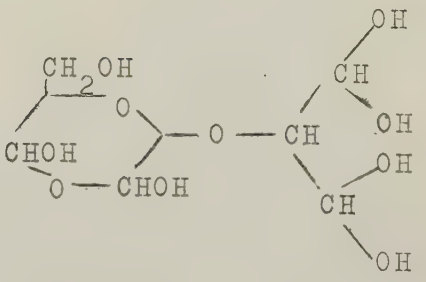
Le calcul du poids moléculaire montre que le tétraldéhyde du lactose renferme trois molécules d'eau et que celui du mélibiose en possède deux, dont une est liée très faiblement. Ceci nous permet de proposer pour ces composés les structures suivantes (tableau nº 31) Le mécanisme de réaction relatif à l'unité galactose est identique à celui qui a été proposé pour le β-méthyl-D-glucopyranoside; l'unité réductrice s'oxyde comme il a été déja exposé (page 43)

TABLEAU N° 31

Structure du trialdéhyde du mélibiose



Structure du trialdéhyde du lactose.



L'examen comparatif des spectres infrarouges des oses et de leurs polyaldéhydes, est en accord avec ces interprétations puisque le spectre du tétraldéhyde pour les fréquences voisines de 1 700 cm^{-1} ne présente pas de différence notable avec le spectre du lactose, alors que le spectre du trialdéhyde montre une intense bande d'absorption pour la fréquence de 1 700 cm^{-1}, bande qui n'existe pas dans le spectre du mélibiose (tableaux n° 32, 33, 34 et n° 35).

TABLEAU N° 32

Spectre Infra-rouge du lactose (Nujol)

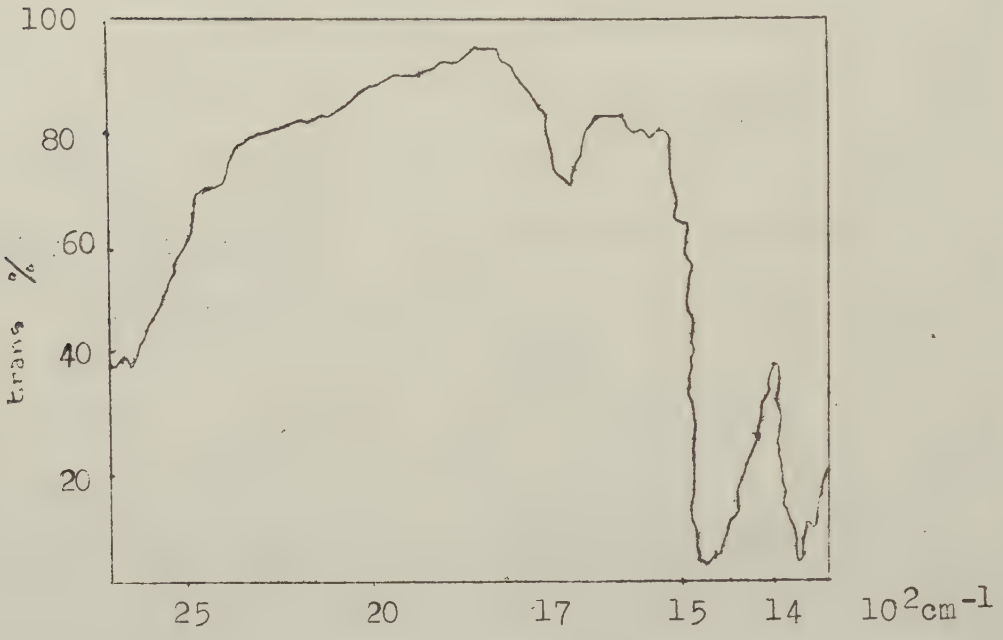


TABLEAU N° 33

Spectre Infra-rouge du tétraldéhyde du lactose (Nujol)

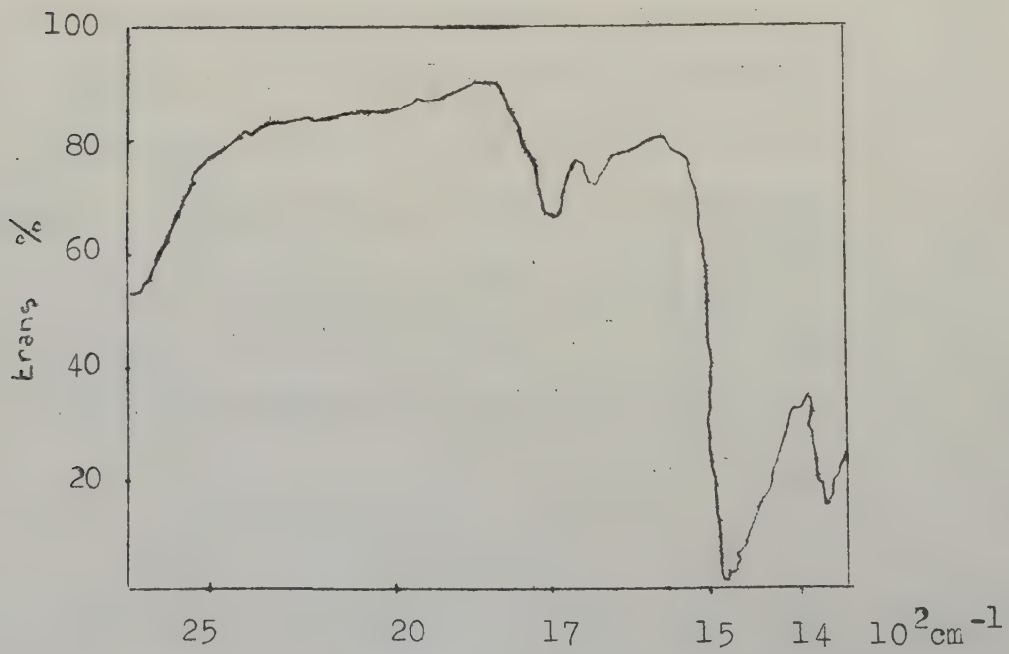


TABLEAU N° 34

Spectre Infra-rouge du mélibiose (Nujol)

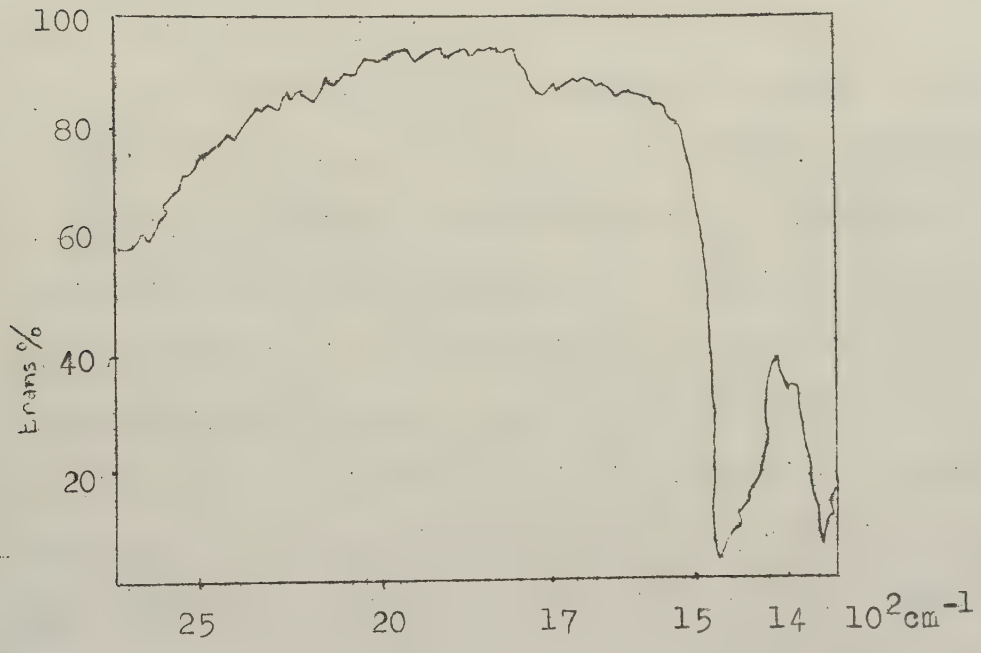
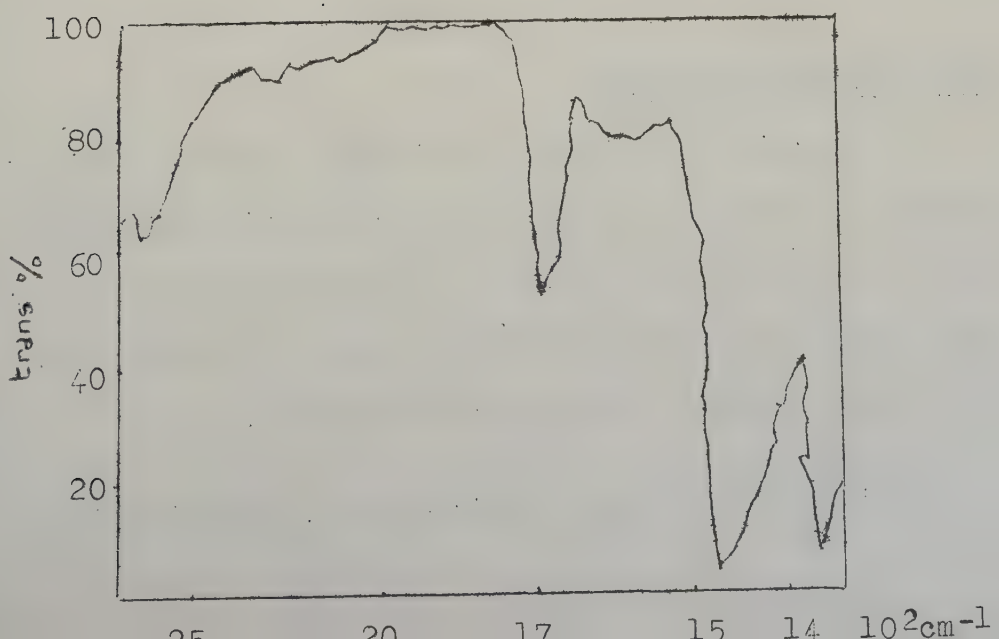


TABLEAU N° 35

Spectre Infra-rouge du trialdéhyde du mélibiose (Nujol)



CONCLUSIONS

Les oligosides réducteurs réagissent vis-à-vis de l'acide periodique d'une manière différente des oligosides non réducteurs; deux mécanismes peuvent être envisagés suivant que l'acide periodique attaque la fraction réductrice ou non réductrice de la molécule. Les unités non réductrices dont l'atome de carbone 1 est engagé dans la liaison osidique, donnent naissance comme dans le cas des oligosides non réducteurs à un dialdéhyde qui s'hydrate et se cyclise; la structure finale de cette unité est un cycle p-dioxane. L'unité réductrice au contraire donne naissance à un reste possédant une ou deux fonctions aldéhyde suivant que la liaison osidique englobe ou non l'atome de carbone 6. Cette fraction aldéhydique s'hydrate alors en donnant un composé plus ou moins labile en fonction de l'apparition plus ou moins facile de ponts hydrogène et de la disposition spatiale de ses fonctions aldéhyde.

CONCLUSIONS GENERALES

L'action de l'acide periodique sur les osides permet leur classement en deux catégories distinctes suivant qu'ils possèdent ou non un groupement réducteur. Ces composés fournissent dans ces conditions des polyaldéhydes obtenus cristallisés.

L'étude du spectre infra-rouge, l'estimation du

nombre de groupements aldéhydes libres et de leur poids moléculaire permettent d'envisager une structure cyclique résultant de l'hydratation des fonctions aldéhydes.

L'absence de fonctions aldéhyde libre a été confirmée par le fait que les solutions aqueuses de ces polyaldéhydes ne présentent aucun maximum d'absorption dans l'ultra-violet.

4ème PARTIE

DOSAGE COLORIMETRIQUE ORIGINAL DES POLYALDEHYDES PRECEDEMMENT ETUDIES.

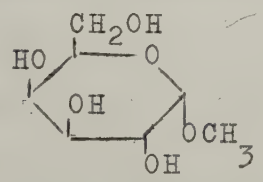
- : -

1/ Introduction

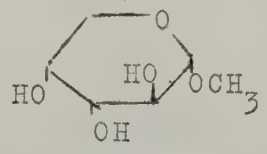
Nous avons oxydé par l'acide periodique en excès les méthyl-pyranosides suivants : ∝ -méthyl-D-arabopyranoside, ∝ -méthyl-D-galactopyranoside (tableau n° 36), ∝ -méthyl-D-glucopyranoside, β -méthyl-D-glucopyranoside (tableau n° 2);ces osides donnent naissance à des sialdéhydes. Il en est de même pour les diholosides réducteurs, (le mélibiose et le lactose) le saccharose et ses mono et di-galactosides (raffinose et stachyose) (tableau n° 2). Ils conduisent respectivement à des tri, tétra, hexa et octoaldéhydes (19) (38) (43) (45) (51).

TABLEAU N° 36

∝-méthyl-D-galactopyranoside



∝-méthyl-D-arabo-pyranoside



Comme nous l'avons démontré au chapitre précédent, les fonctions aldéhydes de ces composés s'hydratent et réagissent entre elles pour donner un cycle p-dioxane. De ce fait, les méthodes habituelles de dosage des aldéhydes ne s'appliquent pas à ces composés; en particulier, l'oxydation par le réactif de Nessler n'est ni régulière, ni spécifique : l'utilisation d'une telle méthode en vue d'un dosa-

ge requiert une technique spéciale (66). La réaction de Schiff (Chapitre précédent) est pratiquement négative; seul le trialdéhyde du mélibiose fait exception, nous avons interprété ce résultat par la présence d'un groupement aldéhyde libre provenant de la dégradation de la molécule de glucose.

Des essais à la touche effectués sur les oses et osides courants ainsi que sur de nombreux aldéhydes de structures variées nous ont montré que le réactif utilisé pour la révélation des chromatogrammes par NOVELLI (56) (modifié par PETEK) donne avec les polyaldéhydes une coloration rose spécifique, tableau n° 37.

TABLEAU N° 37

Essais à la touche : colorations

Produits	Couleur
Fructose	Jaune clair
Glucose	Marron
Galactose	Marron
Saccharose	Marron
Raffinose	Marron
Stachyose	Marron
Aldéhyde glycérique	incolore
" glycolique	incolore
" salicylique	Jaune
" anisique	Jaune

Aldéhyde valérianique	Incolore
" formique	Incolore
" p-diméthylaminobenzylique	Jaune
Polyaldéhydes	Rose.

L'examen de ces résultats nous a conduit à envisager l'utilisation de cette réaction en phase liquide en vue d'un dosage colorimétrique de ces polyaldéhydes.

Technique de Dosage

Nous préparons à partir des produits cristallisés des solutions aqueuses 0,0025 M (par pesée)

Nous utilisons des réactifs dont la composition est la suivante :

R-I-	β-naphtylamine	0,10 g
	Thymol	1,00 g
	Ethanol 80°	150 ml
	acide orthophosphorique (d = 1,17)	2 ml.

L'acide phosphorique ne doit être ajouté qu'après dissolution complète de la β-naphtylamine et du thymol.

Ce réactif doit être rejeté s'il présente une teinte rose.

R-II- Solution aqueuse demi saturée de sulfite neutre de sodium cristallisé (5% environ)

R-III- Acide acétique cristallisable.

a/ Polyaldéhyde en solution pure.

Dans des tubes à essai bouchant à l'émeri, soigneusement lavés à l'eau distillée et séchés, les réactifs sont ajoutés dans les proportions et l'ordre indiqué dans le tableau n° 38.

TABLEAU N° 38

	Témoin	1	2	3	4	5
sol. 0,0025 M de polyaldéhydes (ml)		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Eau distillée (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
R-I- (ml)	2	2	2	2	2	2
R-III-(ml)	6	6	6	6	6	6

Les tubes bouchés sont immergés pendant 60 minutes dans un bain-marie bouillant, puis refroidis dans un courant d'eau; la lecture s'effectue après un repos de 30 minutes, à l'aide d'un spectrophotomètre (JOBIN et YVON type Maroc) (cuves de 2 cm) pour la longueur d'onde de 480 millimicrons, en réglant le zéro de l'appareil sur la solution témoin.

b/ Polyaldéhydes en solution contenant des dérivés iodés (Acide periodique et acide iodique)

Le mode opératoire est identique, mais il est nécessaire d'ajouter une goutte de solution demi-saturée de sulfite neutre de sodium (R-II-) et de laisser reposer 30 minutes avant l'addition du réactif colorant.

Pour chaque produit une série de tubes contenant des quantités connues du polyaldéhyde cristallisé, est traité dans des conditions identiques à celles des solutions à doser.

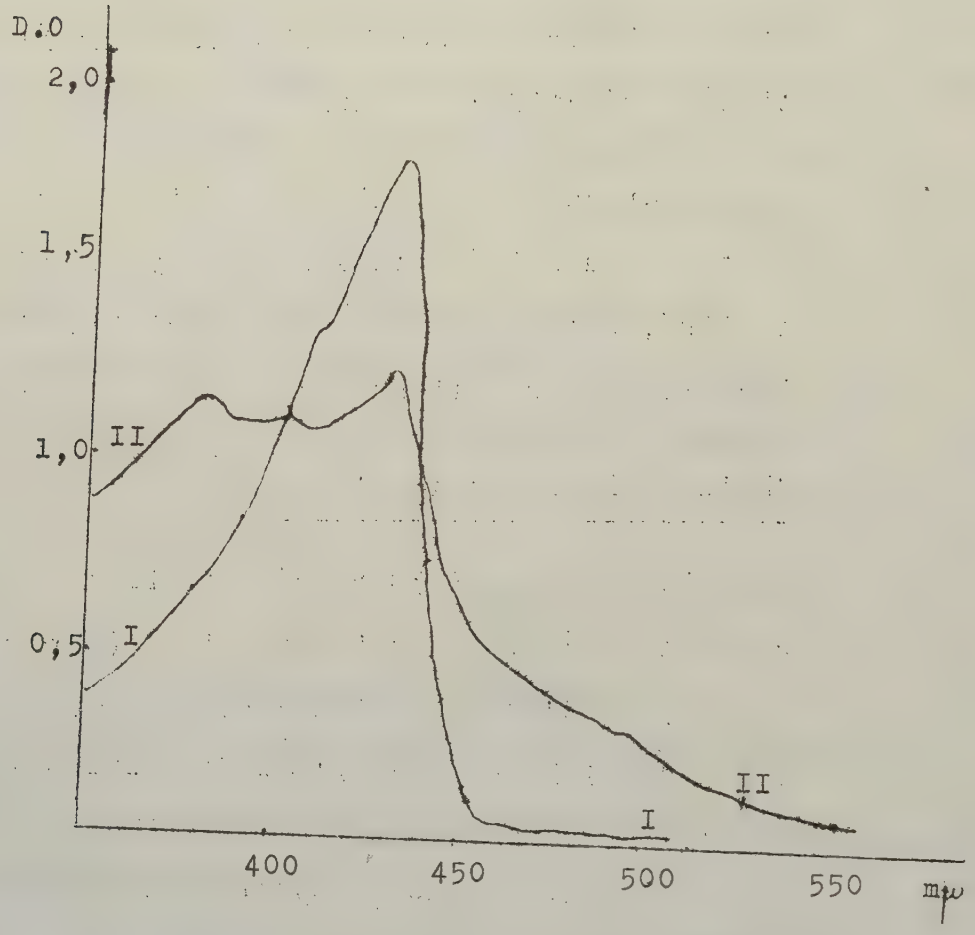
Choix de la longueur d'onde

Le tableau n° 39 représente le spectre de la coloration de la solution témoin I (Coloration de base I) et d'une solution contenant 0,75 micromole de dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside II.

Le spectre correspondant au dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside (tableau n° 39) possède deux maximums pour les longueurs d'onde de 380 et 430 millimicrons. Mais dans cette partie du spectre le témoin présente lui-même une forte coloration. L'intensité de ces maximums est d'ailleurs fonction de l'ancienneté du réactif.

TABLEAU N° 39

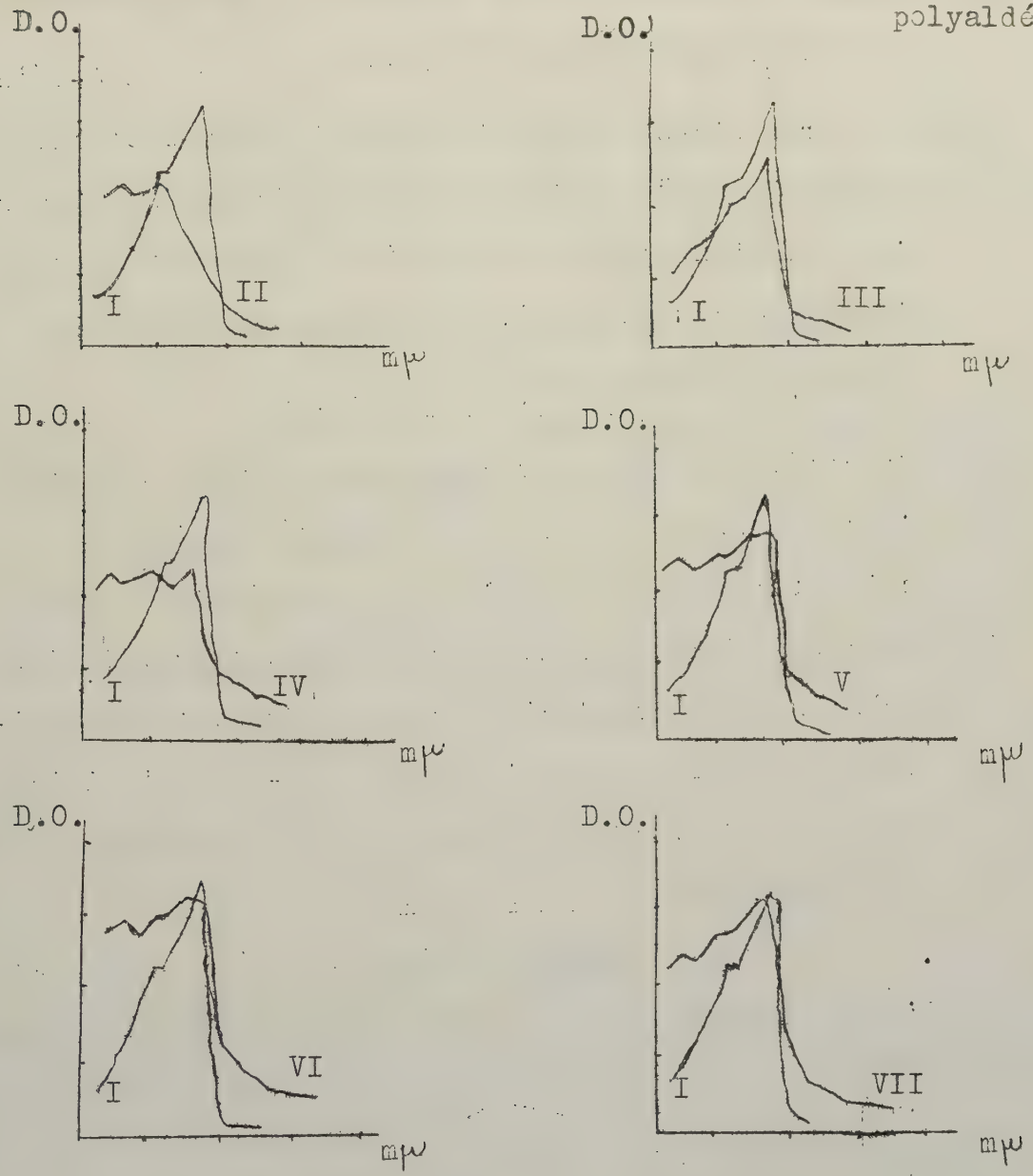
Spectre de la coloration (dialdéhyde de l'α - méthyl-D-glucopyranoside)



I : témoin
II : Dialdéhyde de l'α -méthyl-D-glucopyranoside

Les spectres correspondants aux autres polyaldéhydes étudiés sont identiques et présentent en particulier les mêmes maximums, comme l'indiquent les tableaux n° 39.

TABLEAU N° 40 - Spectres de la coloration relative aux différents polyaldéhydes.



I : Témoin
II : Dialdéhyde de l'α -méthyl-D-arabopyranoside
III : Trialdéhyde du mélibiose
IV : Tétraldéhyde du lactose
V : Tétraldéhyde du saccharose
VI : Hexaldéhyde du raffinose
VII : Octaldéhyde du stachyose.

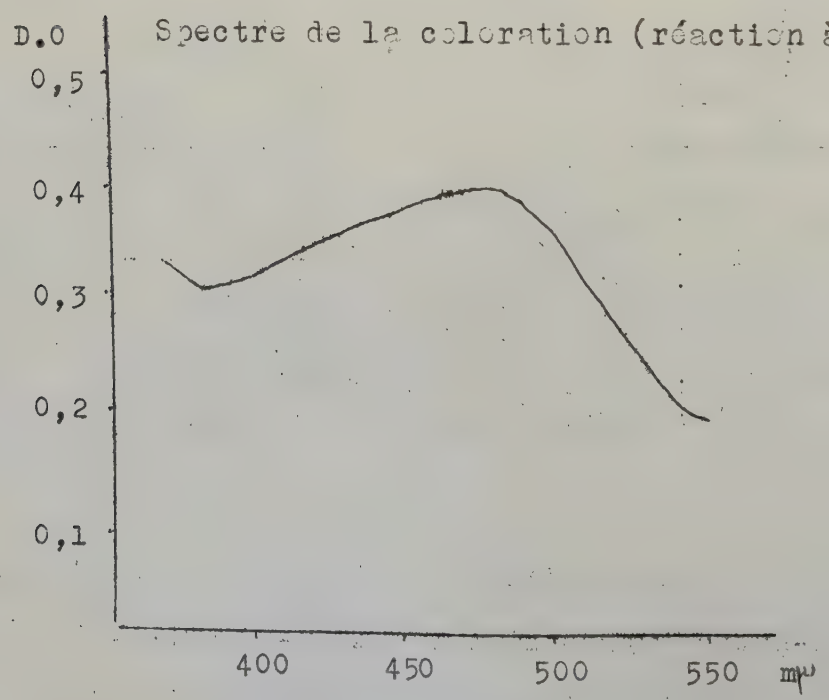
Les spectres des dialdéhydes de l'α -méthyl-D-galactopyranoside et du β -méthyl-D-glucopyranoside sont identiques au spectre du dialdéhyde de

l' ∝ -méthyl-D-glucopyranoside.

Ceci est conforme au fait que tous les ∝-méthyl hexopyranosides donnent le même dialdéhyde et que les isomères β ne diffèrent des précédents que par l'orientation du groupement méthoxy supporté par l'atome de carbone n° 1.

D'autre part cette même réaction à la touche effectuée sur papier avec les mêmes produits et à l'aide du même réactif coloré (pulvérisation du réactif et chauffage à 105° pendant 5 minutes) donne une coloration rose. Le spectre de cette coloration, après élution par l'acide acétique présente un maximum pour la longueur d'onde de 470 - 480 millimicrons. (Tableau n° 41)

TABLEAU N° 41



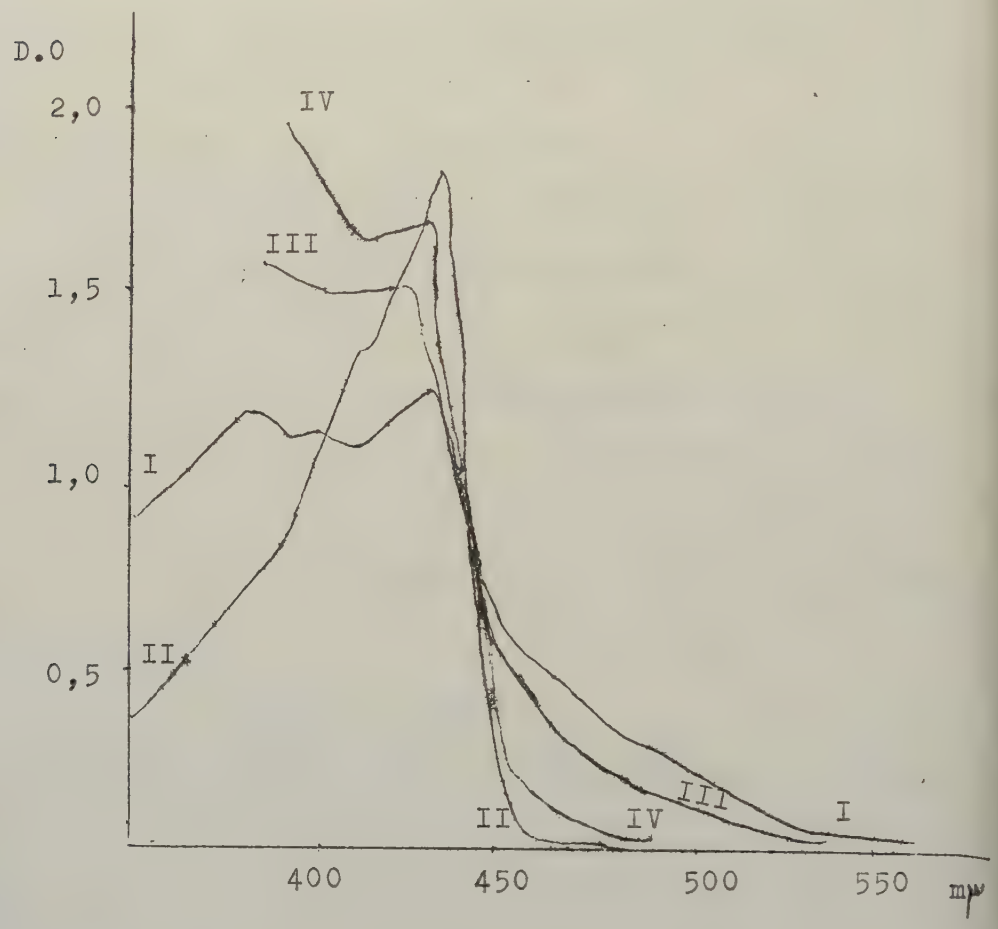
Pour ces longueurs d'onde la coloration du témoin est pratiquement nulle; c'est la raison pour laquelle nous effectuons les lectures pour la longueur d'onde de 480 millimicrons.

Choix du solvant

Des essais comparatifs utilisant l'éthylène glycol et l'acide acétique (tableau n° 42) plaident en faveur de ce dernier; il présente l'avantage d'exalter la coloration dûe aux polyaldéhydes, tout en diminuant les colorations parasites.

TABLEAU N° 42

Spectre de la coloration du dialdéhyde de l'α-méthyl -D-glucopyranoside avec différents solvants.



I : 0,75 moles Dαglu (0,3ml) + 0,7ml H_2O + 2ml RI + 6ml CH_3COOH

II: 1 ml H_2O + 2ml RI + 6ml CH_3COOH

III:0,75 moles Dαglu (0,3ml) + 0,7ml H_2O + 2ml RI + 6ml $HOCH_2CH_2OH$

IV ; 1 ml H_2O + 2ml RI + 6ml $HOCH_2CH_2OH$

L'examen du tableau n° 42 montre que pour la longueur d'onde de 480 millimicrons, la coloration fournie par le dialdéhyde en milieu acétique est plus intense que la coloration obtenue en milieu glycolique.

Composition du réactif colorant

De nombreux essais ayant pour objet l'étude de l'influence de la composition du réactif sur l'intensité de la coloration, nous ont conduit aux conclusions suivantes ;

L'absence d'acide phosphorique diminue l'intensité de la coloration.

Le remplacement de l'éthanol 80° par l'acide acétique outre la difficulté de dissolution des composants ne présente aucun avantage.

L'augmentation de la concentration en β -naphthylamine ou en thymol augmente la coloration du témoin sans modifier l'intensité de la réaction avec les polyaldéhydes.

Les formules des différents réactifs essayés sont résumées dans le tableau n° 43.

TABLEAU N° 43

Réactifs colorants.

	1	2	3
β - naphtylamine	0,10 g	0,20 g	0,20 g

Thymol	2,00 g	1,00 g	2,00 g
Ethanol 80°	150 ml	150 ml	150 ml
Acide phosphorique	2 ml	2 ml	2 ml

Quantité du réactif utilisé

La diminution de la concentration en réactif colorant amène un net abaissement de la sensibilité (tableau n° 43)

TABLEAU N° 44

Diminution des quantités de réactif mises en jeu

	D∝glu 0,0025M (ml)	Eau ml	R I ml	R III ml	Densité optique \=480mμ
1	0,5	0,5	2	6	0,530
1'		1	2	6	0
2	0,5	0,5	1,5	6	0,500
2'		1	1,5	6	0
3	0,5	0,5	1	6	0,170
3'		1	1	6	0
4	0,5	0,5	0,5	6	0,10
4'		1	0,5	6	0

L'intensité de la coloration de chaque essai a été déterminée en réglant le zéro de l'appareil sur un témoin contenant les quantités équivalentes de réactifs, la solution de dialdéhyde étant remplacée par un égal volume d'eau.

L'augmentation de la concentration en réactif colorant n'amène aucune augmentation de la sensibilité, mais par contre la coloration du témoin est plus intense.

Des essais effectués dans les mêmes conditions sur trois polyaldéhydes différents nous ont conduit à des conclusions identiques, tableau n° 45.

TABLEAU N° 45

Augmentation des quantités de réactif mises en jeu.

Tubes	D∝glu 0,0025M ml	Hraf 0,0025M ml	Osta 0,0025M ml	Eau ml	R I ml	R III ml	Densité optique λ = 480 mμ
1	0,2			0,8	2	6	530
2	0,4			0,6	2	6	430
3	0,5			0,5	2	6	214
4				1	2	6	0
5	0,2			0,8	2,5	6	540
6	0,4			0,6	2,5	6	425
7	0,5			0,5	2,5	6	214
8				1	2,5	6	0
9		0,2		0,8	2	6	592
10		0,4		0,6	2	6	490
11		0,5		0,5	2	6	235
12				1	2	6	0
13		0,2		0,8	2,5	6	590
14		0,4		0,6	2,5	6	490
15		0,5		0,5	2,5	6	230
16				1	2,5	6	0

.../

.../

Tubes	D∝glu 0,0025M ml	Hraf 0,0025M ml	Osta 0,0025M ml	Eau ml	R I ml	R III ml	Densité optique λ = 480 mμ
17			0,2	0,8	2	6	0,836
18			0,4	0,6	2	6	0,785
19			0,5	0,5	2	6	0,380
20				1	2	6	0
21			0,2	0,8	2,5	6	0,842
22			0,4	0,6	2,5	6	0,730
23			0,5	0,5	2,5	6	0,382
24				1	2,5	6	0

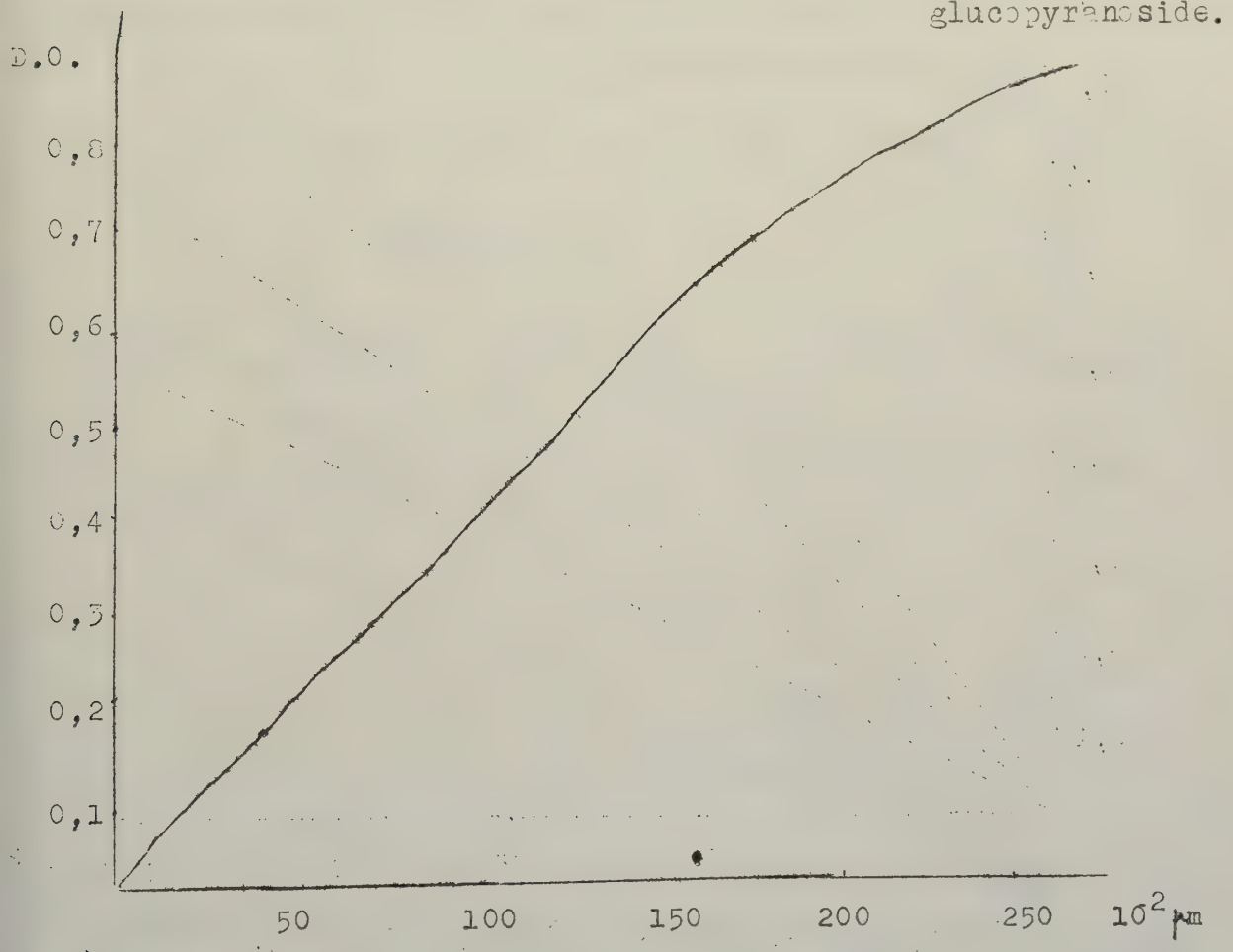
La diminution de la concentration (qui revient à une augmentation de la concentration en réactif colorant) n'est pas souhaitable pour les mêmes raisons.

La quantité de polyaldéhyde doit être comprise entre 0,125 et 1,25 micromoles par prise d'essai. Au dessus de cette concentration en polyaldéhyde (tableau n° 46) et la courbe représentative tend à s'incurver.

Ce phénomène n'est pas dû à la présence d'une quantité trop faible de réactif colorant puisque l'augmentation de la concentration de ce dernier n'amène aucune amélioration.

TABLEAU N° 46

Intensité de la coloration pour des quantités croissantes du dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.



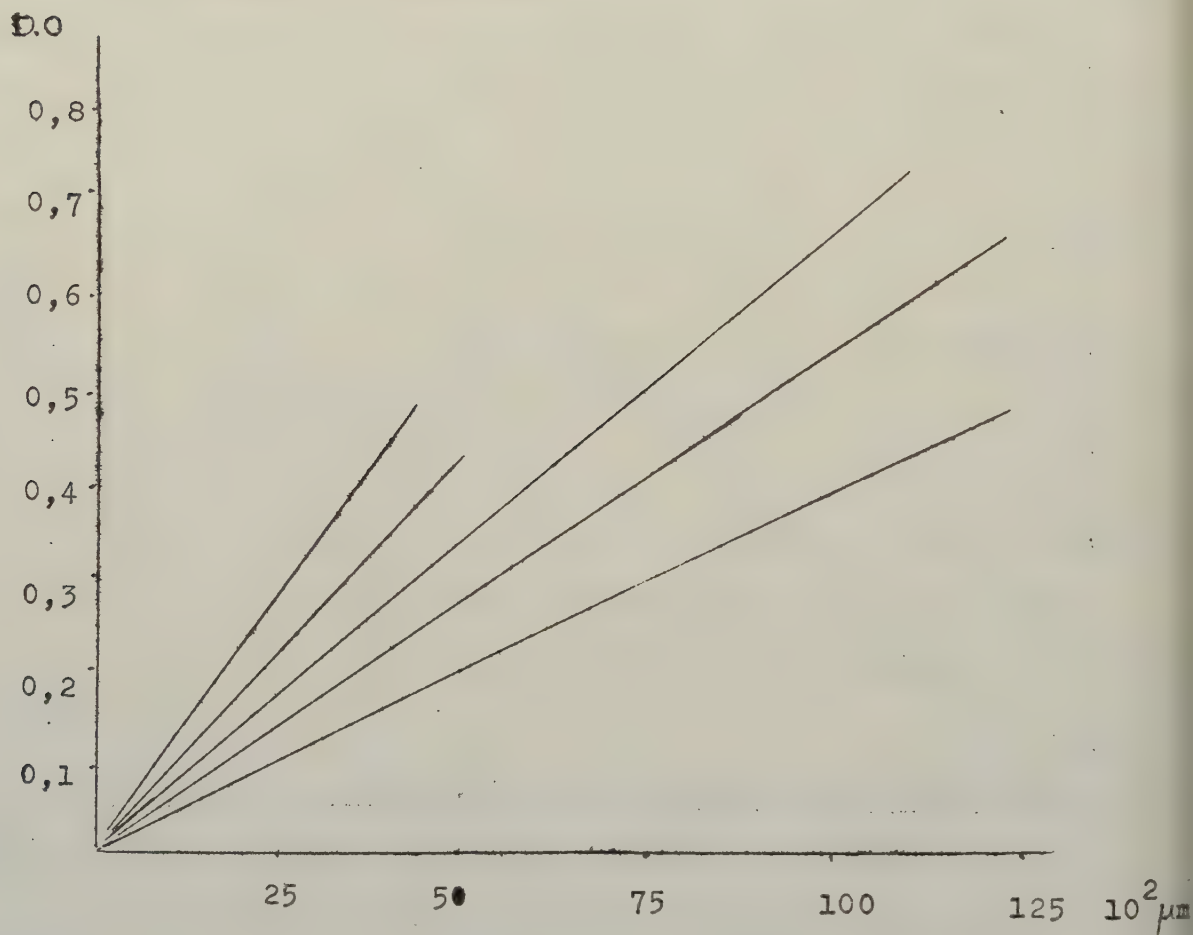
Temps de chauffage

La durée du chauffage influe sur le développement de la coloration. Pour une durée inférieure à 60 minutes, la sensibilité est très faible, les densités optiques lues étant relativement peu importantes. Au contraire pour des temps de chauffage supérieurs à 60 minutes, la coloration continue à se développer, mais la

courbe représentative n'est plus linéaire; (tableau n° 47).

TABLEAU N° 47

Modifications de l'intensité de la coloration avec le temps de chauffage.



Le témoin tend à donner une coloration parasite entrainant, suivant l'ancièneté du réactif des erreurs non négligeables. L'expérience a montré que la durée optimale de chauffage est voisine de 60 minutes : c'est la raison pour laquelle nous avons fixé à une heure, le temps d'immersion du mélange réactionnel dans un bain-marie bouillant.

Diverses lectures effectuées, 12 et 24 heures après le chauffage nous ont donné des colorations plus intenses pour le tube témoin et les tubes contenant les polyaldéhydes, mais la coloration relative (essai-témoin) n'a pas varié. Tableau n°48

TABLEAU N° 48.

Tubes	Dα glu 0,0025M ml	Eau ml	R I ml	R II ml	Densité optique λ = 480 mμ 30 min après chauffage	Densité optique λ = 480 mμ 24 min après chauffage
1	0,1	0,9	2	6	105	120
2	0,2	0,8	2	6	214	208
3	0,3	0,7	2	6	320	310
4	0,4	0,6	2	6	428	420
5	0,5	0,5	2	6	510	500
6	0	1	2	6	0	0

Pour des raisons identiques à celles exposées plus haut, il est préférable d'effectuer les lectures après 30 minutes de repos.

Spécificité

Nous avons vérifié que dans nos conditions opératoires, les osés et les produits qui se forment habituellement au cours des oxydations periodiques n'amènent aucune interférence. Pour ces véri-

fications nous avons utilisé des solutions de même molarité que celles des polyaldéhydes. Les résultats sont consignés dans le tableau n° 49.

TABLEAU N° 49

Intensité de la coloration pour différents produits.

Produits	Densité optique λ = 480 mμ
Dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside	0,520
Glucose	0,036
Saccharose	0,032
Fructose	0,020
Arabinose	0,054
Galactose	0,031
Lactose	0,020
Raffinose	0,030
Stachyose	0,033
Formaldéhyde	0,000
Acétaldéhyde	0,000
Acide formique	0,000

Solutions équimoléculaires 0,0025 M

Prises d'essai correspondant à 1,25 μ moles.

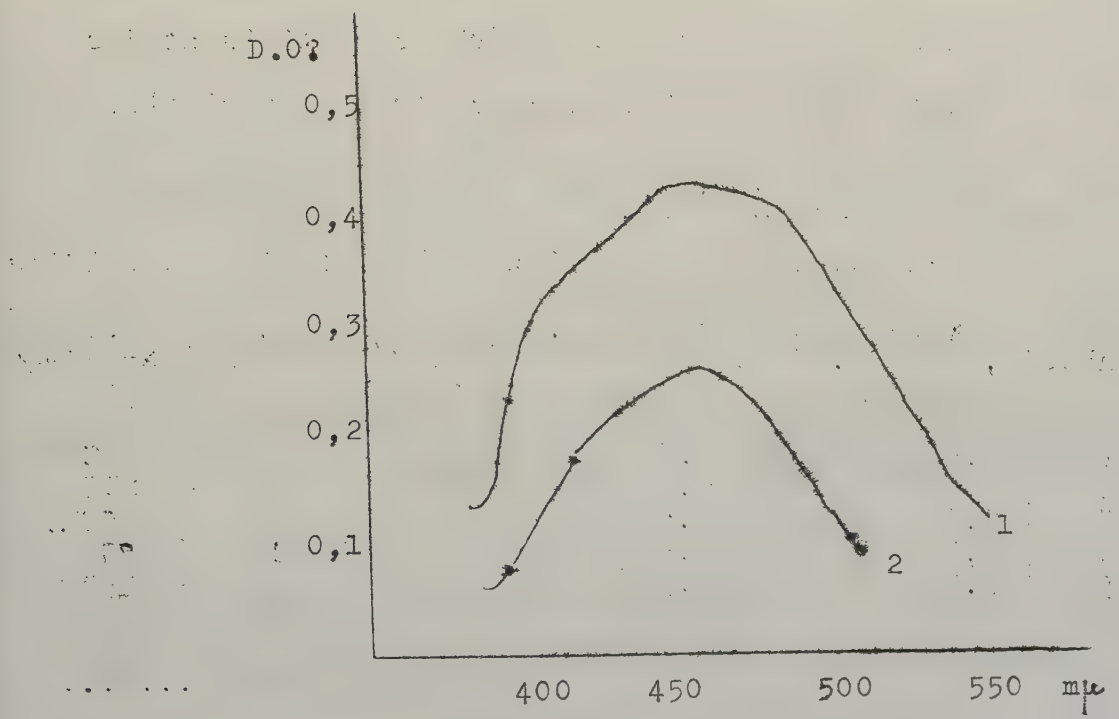
Seuls les pentoses en solution fortement concentrée peuvent gêner le dosage.

Elimination des composés oxygènes de l'iode

L'acide iodique et l'acide periodique réagissent sur le réactif colorant en donnant un composé dont le spectre présente un maximum pour la longueur d'onde de 480 millimicrons. Tableau n° 50.

TABLEAU N° 50

Spectre de la coloration des solutions d'acide periodique et d'acide iodique.



Tubes	Sol PI 0,05M (ml)	Sol.IO_3H 0,05M (ml)	Eau ml	R I ml	R III ml
1	0,5		0,5	2	6
2		0,5	0,5	2	6
3			1	2	6

Il est donc nécessaire d'éliminer les composés oxygènes de l'iode pour réaliser un dosage colorimétrique satisfaisant.

L'addition d'un excès de sulfite neutre de sodium à une solution de ces acides, qui sont alors réduits à l'état d'iodure évite le développement de cette coloration parasite.

Le tableau n° 51 indique les résultats obtenus lors de diverses expériences utilisant des solutions de sulfite de concentration variable.

TABLEAU N° 50

Calcul de la concentration de la solution de sulfite

Tubes	Dαglu 0,0025M (ml)	PI 0,0025M (ml)	Eau (ml)	Sol. de sulfite 10% 5% 2% 1% gouttes	RI	RIII (ml)	D.O λ=480 mμ
1	0,5		0,5	I	2	6	190
2	0,5		0,5	I	2	6	415
3	0,5		0,5	I	2	6	450
4	0,5		0,5	I	2	6	530
5	0,5		0,5		2	6	530

.../...

(TABLEAU N° 51 - suite -)

Tubes	Dxglu 0,0025M (ml)	FI 0,0025M (ml)	Eau (ml)	Sol. de sulfite 10% 5% 2% 1% gouttes	RI (ml)	RIII (ml)	D.O λ= 480 mμ
6		0,5	0,5	I	2	6	0,00
7		0,5	0,5	I	2	6	0,00
8		0,5	0,5	I	2	6	0,02
9		0,5	0,5	I	2	6	1,65
10		0,5	0,5		2	6	1,75
11			1		2	6	0

Des essais préliminaires réalisés sur des mélanges contenant le réactif colorant de l'acide acétique et de l'eau ou des quantités variables d'une solution de sulfite neutre de sodium ont montré que dans tous les cas la coloration est, pour les longueurs d'onde de 470 et 480 mμ identique quelle que soit la concentration en polyaldéhyde. C'est la raison pour laquelle il est indifférent de préparer le témoin avec ou sans sulfite.

D'autre part, l'addition du sulfite à divers stades de la réaction nous a montré l'irréversibilité des colorations ayant pour origine une réaction entre les dérivés oxygénés de l'iode et le réactif colorant; il en résulte la nécessité d'ajouter le sulfite avant le réactif colorant et avant le chauffage. L'expérience a prouvé qu'il est préférable de laisser en contact 30 minutes

environ, le sulfite avec la solution à doser avant d'ajouter le réactif colorant et l'acide acétique. Tableau n° 52.

TABLEAU N° 52

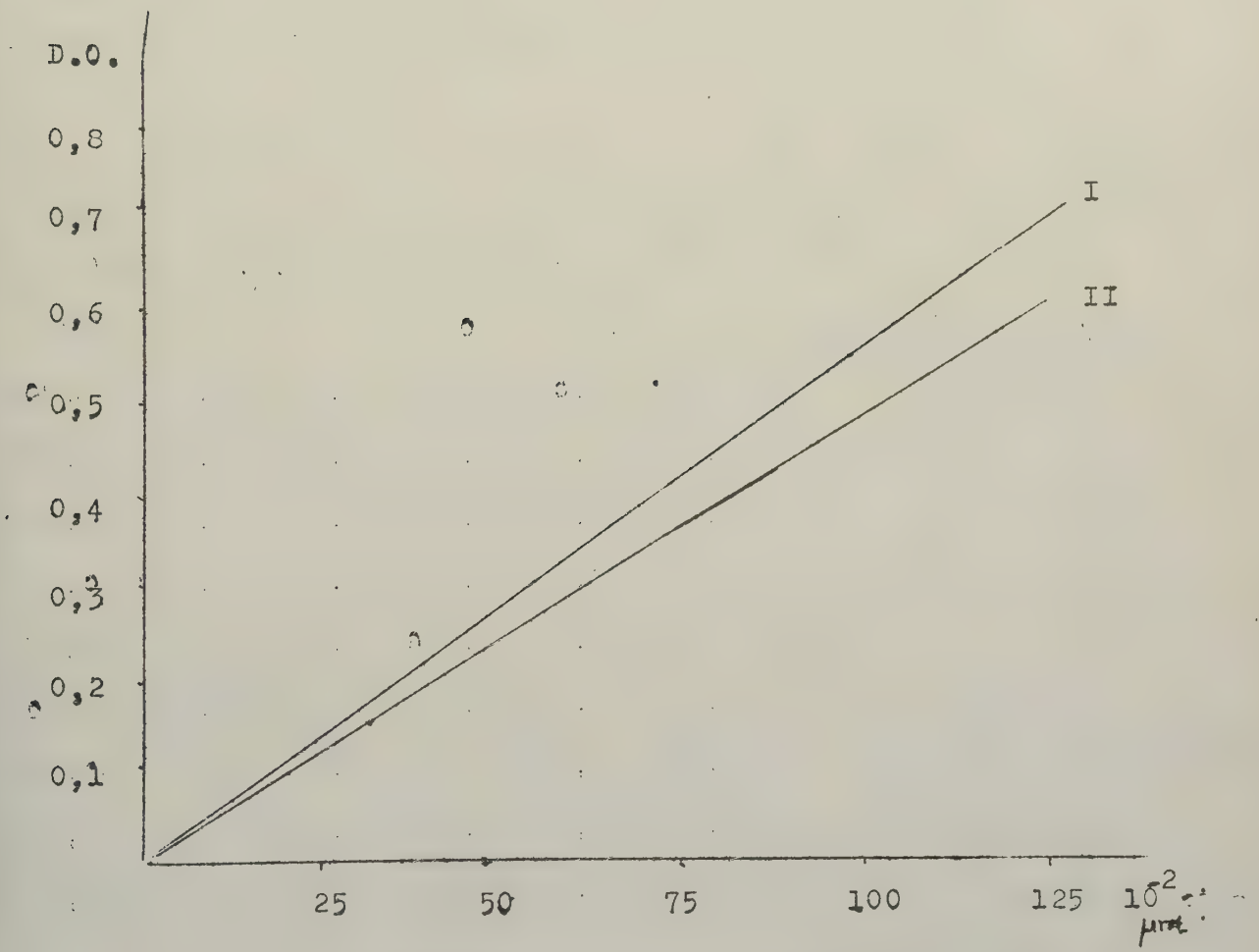
Temps en	Densité optique λ = 480 mμ
1 / 10 minutes	0,230
2 20	0,220
3 30	0,214
4 45	0,215
5 60	0,214
6 105	0,216

Chaque essai met en réaction 1,25 moles de dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.

Le tableau n° 53 représente (courbe n°1) un essai relatif à une solution pure de dialdéhyde et (courbe n°2) un essai dans lequel il a été ajouté une goutte de solution demi-saturée de sulfite neutre de sodium avant l'addition du réactif colorant; des mélanges identiques contenant en outre des quantités variables d'acides periodique nous ont fournis des courbes superposables à la courbe n° 2.

TABLEAU N° 53

Modification de l'intensité de la coloration sous l'influence du sulfite neutre de sodium.



L'examen de ce tableau montre que l'intensité de la coloration est légèrement diminuée par la présence du sulfite de sodium, mais les valeurs de la densité optique restent assez élevées pour permettre un dosage dans des conditions satisfaisantes.

Les valeurs de la densité optique indiquée dans le tableau n° 54 pour des solutions équimoléculaires de différents polyaldéhydes montrent que l'intensité de la réaction est fonction de la structure de ceux-ci.

TABLEAU N° 54

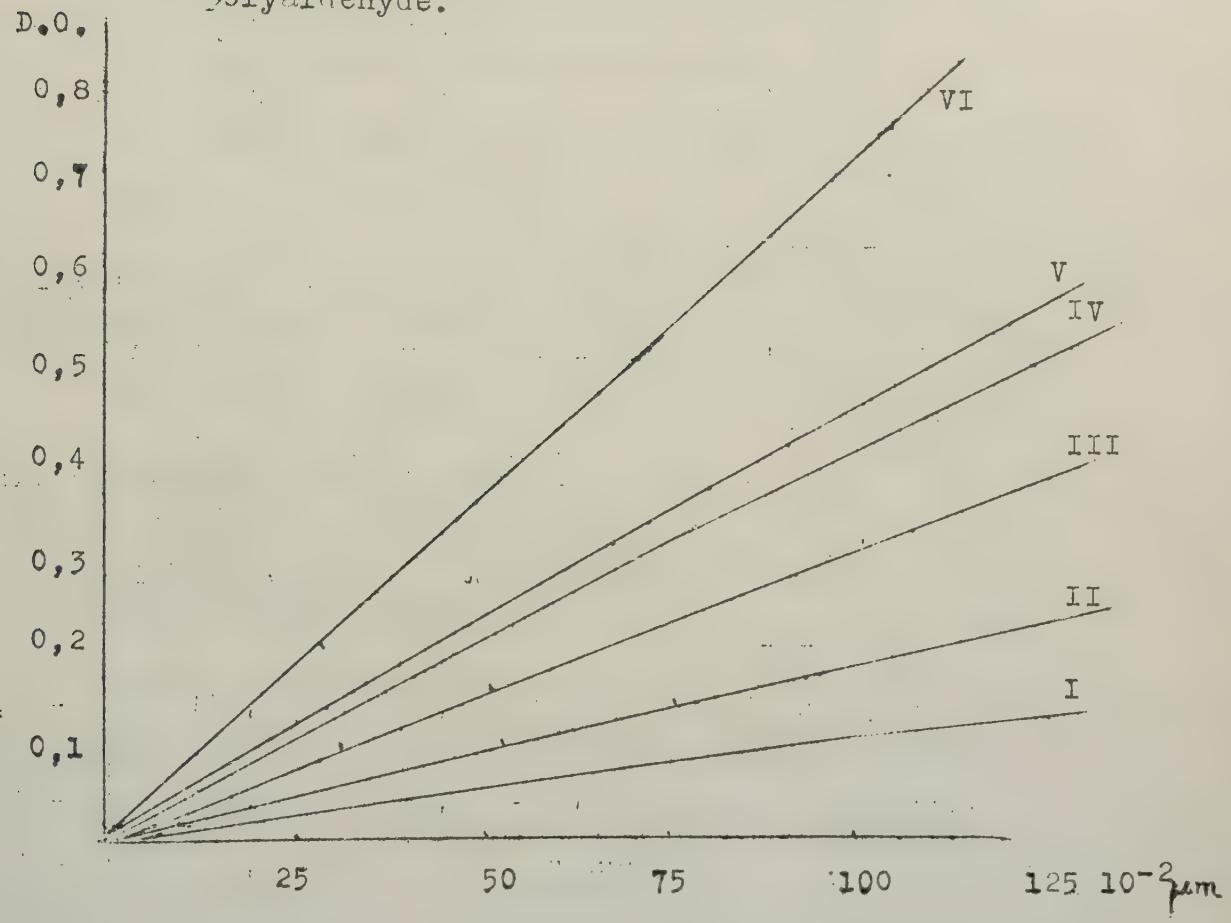
Intensité de la coloration en D.O. (λ=480 mμ)

μmoles mises en réaction X10^{-2}		12.5	25	50	75	100	125
II	Dαara	0,024	0,048	0,098	0,140	0,192	0,200
	Dαglu	0,054	0,110	0,220	0,320	0,434	0,526
IV	Dβglu	0,054	0,108	0,214	0,320	0,426	0,532
	Dαgal	0,054	0,108	0,210	0,320	0,412	0,470
I	Tmel	0,014	0,024	0,050	0,076	0,104	0,134
III	Tlac	0,040	0,082	0,164	0,238	0,330	0,400
V	Tsac	0,062	0,122	0,240	0,363	0,480	0,536
	Hraf	0,062	0,124	0,232	0,363	0,490	0,578
VI	Osta	0,094	0,188	0,380	0,578	0,730	0,780

La représentation graphique (tableau n° 55) pour chacun de ces composés se traduit par une droite.

TABLEAU N° 55

Intensité de la coloration relative à chaque polyaldéhyde.



Il est impossible de faire un rapprochement entre l'intensité de la coloration et la structure des polyaldéhydes envisagés; on peut toutefois constater que les méthylpentosides et les diholosides réducteurs donnent des réactions relativement peu intenses par rapport aux osides non réducteurs.

Vérification de la technique

Des solutions d'α-méthyl-D-glucopyranoside et de saccharose de concentrations connues (préparées par pesée) ont été oxydées par un excès d'aci-

de périodique et les concentrations en dialdéhyde et tétraldéhyde correspondants sont mesurées par rapport à des polyaldéhydes cristallisés.

Les résultats sont consignés dans le tableau n° 56.

TABLEAU N° 56

Dosage des polyaldéhydes formés au cours de l'oxydation de l'α-méthyl-D-glucopyranoside et du saccharose.

Nature de l'oside	Polyaldéhyde formé	Quantités d'oside oxydé (µmole/ml)	Quantités de Polyaldéhyde dosé (µmole/ml)	Erreur
α-méthyl-D-glucopyranoside	D glu	0,145	0,141	- 0,7 %
Saccharose	Tétraldéhyde saccharose	0,160	0,153	- 4 %
			0,151	- 5 %

Les erreurs, en général par défaut, ne dépassent pas 5%. Il est possible d'incriminer en premier lieu la technique de dosage décrite. Mais il est tout aussi légitime d'envisager que la transformation des osides en polyaldéhydes sous l'action de l'acide periodique n'est pas strictement quantitative; des réactions parasites peu importantes quantativement, peuvent, soit modifier le cours de la réaction pour une petite partie des molécules, soit, au contraire, fournir un début d'oxydation des polyaldéhydes formés. Ceci est

confirmé par le fait que la quantité d'acide periodique consommé par molécule d'oside varie en fonction du temps de contact (51) (43).

Il en résulte que la concentration théorique calculée à partir de quantité d'oside mise en réaction est obligatoirement supérieure à la quantité réèlle présente dans les solutions oxydées. Ce phénomène peut expliquer d'une façon satisfaisante le léger déficit généralement observé.

On peut donc estimer que cette méthode permet un dosage des polyaldéhydes formés par action de l'acide periodique sur les osides, l'erreur n'excédant pas 5 % pour des concentrations en substance de l'ordre de 0,125 à 1,25 micromoles par ml.

CONCLUSIONS.

Nous avons oxydé successivement par l'acide periodique en excès 1,α-méthyl-D-arabopyranoside, les α et β-méthyl-D-glucopyranosides, l'α-méthyl-D-galactopyranoside, le lactose, le mélibiose, le saccharose et ses galactosides (raffinose et stachyose) Les quantités d'acide periodique mises en jeu correspondent à 1,5 fois les quantités nécessaires pour dégrader les osides en polyaldéhydes. Par dilution convenable, la solution de polyaldéhydes doit être amenée à une concentration comprise entre 0,125 et 1,25µmoles/ml. On opère sur ce volume de 1 ml après avoir réduit les composés oxygénés de l'iode par addition d'une goutte de solution aqueuse de sulfite neutre de sodium à demi-saturation.

Après un contact de 30 minutes, l'addition de 2 ml de réactif colorant et de 6 ml d'acide acétique cristallisable, fournit par séjour de 1 h au bain-marie bouillant, une coloration rose évaluée spectrophotométriquement.

Un témoin contenant de l'eau distillée et une série d'étalons contenant des quantités croissantes des polyaldéhydes correspondants obtenus cristallisés lors d'un travail précédent, sont traités d'une manière identique.

La lecture s'effectue pour la longueur d'onde de 480 mµ à l'aide de cuves de 2 cm en réglant le zéro du spectrophotomètre sur la solution témoin.

Dans ces conditions les pectres d'absorption de la coloration fournie par tous les composés envisagés sont

identiques.

L'absence de coloration avec de nombreux aldéhydes aliphatiques ou aromatiques a été vérifiée.

Les oses et les produits intermédiaires apparaissant au cours des oxydations periodiques ne réagissent pas dans ces conditions opératoires.

Seuls les pentoses donnent une coloration, mais son intensité est 10 fois moins forte que celle fournie par le dialdéhyde de l'α-méthyl-D-glucopyranoside.

Acétaldéhyde, formaldéhyde et acide formique ne donnent aucune coloration. L'acide iodique et l'acide periodique n'intesfèrent pas.

CONCLUSIONS GENERALES

En entreprenant ce travail, nous nous sommes proposés de mettre au point une technique de dosage colorimétrique spécifique des polyaldéhydes obtenus par oxydation periodique des oligosides réducteurs et non réducteurs.

Il nous a donc été nécessaire de préparer des polyaldéhydes dans un état de pureté tel, qu'ils puissent servir de substances de référence pour étalonner cette réaction colorimétrique.

Ce travail se divise en quatre partie :

La première partie est relative aux techniques générales de préparation et de vérification de la pureté des oligosides soumis à l'action de l'acide periodique. Nous exposons ensuite les principales techniques qualitatives et quantitatives permettant d'une part de caractériser les composés formés au cours des oxydations periodiques et d'autre part d'effectuer leur dosage.

Dans la deuxième partie, nous réalisons une étude critique de l'utilisation de quelques résines échangeuses d'anion, en envisageant particulièrement leur pouvoir de fixation vis-à-vis des ions iodique et periodique d'une part, et des polyaldéhydes d'autre part. Nous décrivons ensuite un protocole simple de préparation d'assez nombreux polyaldéhydes. Ces produits sont

obtenus cristallisés dans un bon état de pureté avec des rendements particulièrement satisfaisants. Ceux-ci ont été calculés pour la plupart de ces substances.

Dans la troisième partie, nous exposons succintement les hypothèses formulées par différents auteurs au sujet de la constitution de ces polyaldéhydes. A l'aide de techniques, non encore appliquées à l'étude de ces dérivés, nous entreprenons de préciser leur structure.

Nos déductions reposent tout particulièrement sur l'examen comparatif des spectres I.R. des oligosides et des polyaldéhydes qui en dérivent. Cette étude n'avait pû jusqu'ici être effectuée puisque les composés étudiés n'avaient jamais été obtenus à l'état cristallisé.

En outre, l'évaluation cryoscopique des P.M. et la mesure du nombre de groupements aldéhydes libres au moyen du réactif de Schiff ont confirmé que les polyaldéhydes possèdent dans la majorité des cas, une structure cyclique. Après hydratation préalable des fonctions aldéhydes, la fermeture du cycle résulte de la réaction de deux groupements hydrate d'aldéhydes entre eux avec perte d'une molécule d'eau.

Tout se passe comme si chacune des fonctions correspondant aux hexoses engagés dans une liaison osi-

dique par le groupement carbonyle, se cyclisent après action de l'acide periodique, avec fixation d'une molécule d'eau pour donner un chainon à une structure p. dioxane; l'ose, lue en bout de chaine, dont le groupement réducteur n'est pas impliqué dans une liaison osidique réagit comme s'il se trouvait sous forme linéaire et de ce fait, donne naissance à un mono ou dialdéhyde dont les fonctions carbonyles s'hydratent. La stabilité de ces hydrates varie suivant que le chainon est constitué par un mono ou dialdéhyde.

Néanmoins en solution aqueuse, on peut admettre que la structure proposée s'applique à la quasi totalité des molécules. Mais une très faible fraction peut présenter des fonctions aldéhydes libres. Il se réalise un équilibre très fortement déplacé en faveur des composés à structure p. dioxane.

Cette hypothèse permet de conclier la structure proposée avec le fait qu'il est possible d'obtenir, avec des dérivés de la phénylhydrazine, des monoformazan par déplacement de l'équilibre sous l'action de ce réactif.

Dans la quatrième partie, nous avons mis au point une technique originale de dosage de ces polyaldéhydes. Cette réaction utilise la coloration rose spécifique que donnent ces dérivés en milieu phosphorique, avec

un mélange de β -naphtylamine et de thymol. Le développement de cette coloration est régulier si l'on prend la précaution de réaliser un milieu réactionnel pauvre en eau et riche en acide acétique.

L'étude systématique des différents paramètres qui régissent cette réaction conduit à proposer un protocole opératoire assez strict. L'élimination de l'action perturbatrice de l'acide periodique et de l'acide iodique est obtenu par adjonction de sulfite neutre de sodium.

Les différents hexoses et oligosides, ainsi que les acides et les aldéhydes de faible poids moléculaire apparaissant généralement lors de l'action de l'acide periodique sur ces hydrates de carbone n'intesfèrent pas dans ce dosage.

Toutes ces considérations permettent de conclure que cette réaction est spécifique des polyaldéhydes formés au cours des oxydations periodiques.

- : -

Abréviations

PI	Acide periodique
D$^{\alpha}$Ara	Dialdéhyde de l'α-méthyl - D - arabopyranoside
D$^{\alpha}$Glu	Dialdéhyde de l'α-méthyl - D - glucopyranoside
D$^{\beta}$Glu	Dialdéhyde du β- méthyl - D - glucopyranoside
D$^{\alpha}$Gal	Dialdéhyde de l'α-méthyl - D - galactopyranoside
Tmel	Trialdéhyde du mélibiose
Tlac	Tétraldéhyde du lactose
Tsac	Tétraldéhyde du saccharose
Hraf	Hexaldéhyde du raffinose
Osta	Octaldéhyde du stachyose.

B I B L I O G R A P H I E

1 ABDEL-AKHER (M.), HAMILTON (J.K.), MONTGOMERY (R.) et SMITH (F.), J. amer. chem. Soc., 1952, 74, 4970.

2 ABDEL-AKHER (M.), CADOTTE (J.E.), MONTGOMERY (R.), SMITH (F.), VAN CLEVE (J.W.) et LEWIS (B.A.), Nature, 1953, 171, 474.

3 ABDEL-AKHER (M.), SMITH (F.), J. amer. chem. Soc., 1959, 81, 1718.

4 BADDILEY (J.), BUCHANAN (J.G.), et SZABO (L.), J. chem. Soc., 1954, 3826.

5 BAER (H.H.) et FISCHER (H.O.L.), Proc. Nath. Acad. Sci. US, 1958, 44, 991.

6 BAER (H.H.), et FISCHER (H.O.L.), J. amer. chem. Soc., 1959, 81, 5184.

7 BAER (H.H.) et FISCHER (H.O.L.), J. amer. chem. Soc., 1960, 82, 3709.

8 BOUGAULT (J.), J. Pharm. Chim., 1917, 16, 97.

9 BUCHANAN (J.G.), BEKKER (C.A.) et LONG (A.G.), J. chem. Soc. 1950, 3162.

10 CADOTTE (J.E.), DUTTON (G.C.S.), GOLDSTEIN (I.J.), LEWIS (B.A.), VAN CLEVE (J.W.) et SMITH (F.) , Abst. Paper amer. chem. Soc., 1956, 129, 5D.

11 CADOTTE (J.E.), DUTTON (G.C.S.), GOLDSTEIN (I.J.) LEWIS (B.A.), SMITH (F.) et V N CLEVE (J.W.), J. amer. chem. Soc., 1957, 79, 691.

12 COLBRAN (R.L.), GUTHRIE (R.D.) et PARSONS (M.A.), J. chem. Soc., 1960, 3532.

13 COURTOIS (J.E.), WICKSTSOM (A.) et LE DIZET (P.), Bull. Soc. Chim. biol., 1953, 35, 1111.

14 CIFONELLI (J.A.) et SMITH (F.), Anal. Chem., 1954, 26, 1132.

15 DENIGES (G.), C.R. Acad. Sc., 1910, 150, 529.

16 DISCHE (Z) et BORENFREUD (E.), J. biol. Chem., 1949, 180, 1927.

17 ERMOLENKO (I.N.), ZHABANDKOV (R.G.), IVANOV (V.I.) LENSHINA (I.J.) et IVANOVA (V.S.), Izvest. Akad. Nauk. S.S.S.R. Otdel. Khim. Nauk, 1958, 249 - Chem. Abst. 1958, 52, 11408.

18 FRIEDMAN (Th.E.), COTONIO (M.) et SHAFFER (P.A.) J. biol. Chem. 1927, 73, 335.

19 FLEURY (P.) et LANGE (J.), J. Pharm. Chim, 1933, 17, 107, 196, 313, 409.

20 FLEURY (P.) et COURTOIS (J.E.), Bull. Soc. chim., 1943, 10, 245.

21 FLEURY (P.) et COURTOIS (J.E.), Bull. Soc. chim, 1945, 12, 548

22 GOLDSTEIN (I.J.), HAMILTON (J.K.), MONTGOMERY (R.) et SMITH (F.), J; amer. chem. Soc., 1957, 79, 6469.

23 GOLDSTEIN (I.J.), LEWIS (B.A.), et SMITH (F.), J. amer. chem. Soc., 1958, 80, 939.

24 GOLDSTEIN (I.J.), et SMITH (F.), Chem. and Ind., 1958, 40.

25 GOLDSTEIN (I.J.), et SMITH (F.), J. amer. chem. Soc. 1958, 80, 4681.

26 GOLDSTEIN (I.J.), LEWIS (B.A.) et SMITH (F.), Chem. and. Ind., 1958, 595.

27 GOLDSTEIN (I.J.), HAMILTON (J.K.) et SMITH (F.), J; amer. chem. Soc., 1959, 81, 6252.

28 GOLDSTEIN (I.J.) et SMITH (F.), J; amer. chem. Soc., 1960, 82, 3421.

29 GUERNET (M.), Bull. Soc. chim., 1961, 22, 2272.

30 GUERNET (M.), Thèse Doct. Univ. (Pharm.) Paris,1958.

31 GUTHRIE (R.D.) et HONEYMAN (J.), J. chem. Soc., 1959 2441.

33 HAMILTON (J.K.) et SMITH (F.) J. amer. chem. Soc., 1956, 78, 5907.

34 HAMILTON (I.K.), MONTGOMERY (R.) et SMITH (F.), J. amer. chem. Soc., 1957, 79, 6469.

35 HAMILTON (J.K.), HUFFMAN (G.W.) et SMITH (F.), J. amer. chem. Soc., 1959, 81, 2176.

36 HARTLER (N.) et SAMUELSON (O.), Anal. Chim. Acta, 1953, 8, 130.

37 HEAD (F.S.H.), J. Textile Inst., 1955, 46, T.400.

38 HERISSEY (H.), FLEURY (P.) et JOLY (M.), J. Pharm. Chim., 1934, 20, 149.

39 HIGGINS (H.G.) et Mc KENZIE (A.W.), Australian J. appl. Sci., 1959, 9, 167.

40 HONEYMAN (J.) et SHAW (C.J.G.), J. chem. Soc., 1959, 2454.

41 HURD (C.D.), BARKER (P.J.) HOLYSZ (R.P.) et SAUNDERS (W.H.) J. org. Chem., 1953, 18, 186.

42 JACKSON (E.L.) et HUDSON (C.S.), J. amer. chem. Soc., 1937, 59, 2049 et 1938, 60, 989.

43 JACKSON (E.L.) et HUDSON (C.S.), J. amer. chem. Soc., 1939, 61, 1530.

44 JERMYN (M.A.) et ISHERWOOD (F.A.), Biochem.J., 1949, 44, 402.

45 KHOUVINE (Y.) et ARRAGON (G.), Bull. Soc. chim., 1949, 8, 676.

46 KHIM (X.) et COHN (W.E.), J. amer. chem. Soc., 1960, 82, 6380.

47 KLOB (J.) et FANDRE (A.), Bull. Soc. chim.,1906, 35, 1220.

48 LEWIS (B.A.),MONTGOMERY (R.), SMITH (F.) et Van CLEVE (J.W.) Abst. Paper amer. chem. Soc. 1952, 121, 4 P.

49 Mac MANUS (J.F.A.), Nature, 1946, 158, 202.

50 MALANGEAU (P.), Thèse Doct. Etat (Pharm.), Paris 1955.

51 MALAPRADE (L.), Bull. Soc. chim.,1928, 43, 683.

52 MELLER (A.) , Chem. and Ind., 1953, 1204.

53 MESTER (L.) et MOCZAR (E.), Chem. et Ind., 1957, 761.

54 MESTER (L.) et MOCZAR (E.), Chem. and Ind., 1957, 764.

55 MESTER (L.), Adv. Carbohydrates Chem., 1958, 13,105.

56 NOVELLI (A.), Nature, 1950, 166, 745.

57 O'CONNOR (R.T.), Du PRE (E.F.) et MITCHAN (D.), Textile Research J., 1958,28, 382.

58 PAQUIN (R.), Thèse Doct. Univ. (Pharm.) Paris, 1962.

59 PAUCHARD (E.), Thèse Doct. Univ. (Pharm.), Paris, 1927 et J. Pharm. Chim., 1926, 73, 335.

60 RAYMOND (A.L.) et SCHOEDER (E.F.), J. amer. chem. Soc., 1948, 70, 2785.

61 ROWEN (J.W.), FORZIATI (F.H.) et REEVES (R.E.), J. amer. chem. Soc., 1951, 73, 4484.

62 SHALLENBERGER (R.S.), Chem. and Ind., 1961, 15, 475.

63 BIELAWSKI (J.), Bull. Soc. chim., 1956, 553.

64 SMITH (F.) et Van CLEVE (J.W.), J. amer. chem. Soc. 1955, 77, 3091.

65 SPEDDING (H.), J. chem. Soc., 1960, 3147.

66 VALENTINO (A.), Thèse Doct. Univ. (Pharm.) Paris, 1944.

67 Van OSS (C.J.), ANNICOLAS (D.) et LABIE (C.), Bull. Soc. Chim. biol., 1959, 41, 1711.

68 VIRKOLA (N.), Peoeri ja Puu, 1958, 40, 367.

69 WALTERS (D.), DUTCHER (J.D.) et WINTERSTEINER (O.W.) J. amer. chem. Soc., 1957, 79, 5076.

- : -

Pages

GENERALITES 1

1ère PARTIE : OBTENTION DES OLIGOSIDES, METHODES DE PREPARATION ET D'ANALYSE

Chapitre I : Préparation des osides . . . 6

Chapitre II : Analyse qualitative 11

Chromatographie sur papier . . 11

Chromatographie sur colonne échangeuse d'ions 19

Caractérisation des polyaldéhydes au moyen de la réaction de la diphénylamine . . 22

Chapitre III : Analyse quantitative 25

Détermination de la quantité d'acide periodique consommé dans l'oxydation des osides en présence d'un excès d'oxydant 25

Dosage de corps libérés lors des oxydations 26

Déterminations de quelques propriétés physiques 32

2ème PARTIE : PREPARATION DE DIVERS POLYALDEHYDES

Chapitre I : Techniques antérieures . . . 35

Introduction 35

Elimination des dérivés oxygénés de l'iode par précipitation sous forme de sels de Baryum 46

Pages

Chapitre II : Travaux personnels 49

Etude de la désionnisation à l'aide de résines échangeuses d'anions 49

Constants physico-chimiques des composés originaux . . . 61

Conclusions 62

3ème PARTIE : STRUCTURE DES POLYALDEHYDES

Chapitre I : Polyaldéhydes connus en solution, hypothèses de structure antérieurement proposées 64

Dosage de fonctions aldéhydes libres 71

Détermination des poids moléculaires 75

Discussion des résultats . . 76

Conclusions générales 95

4ème PARTIE : DOSAGE COLORIMETRIQUE ORIGINAL DES POLYALDEHYDES PRECEDEMMENT ETUDIES

Introduction 98

Technique de dosage 100

Choix de la longueur d'onde 102

Choix du solvant 106

Composition du réactif colorant 108

Quantité du réactif utilisé . 109

Temps de chauffage 112

Pages

Spécialité 114

Elimination des composés oxygènes de l'iode 116

Vérification de la technique. 122

Conclusions 125

CONCLUSIONS GENERALES 127

ABREVIATIONS.

BIBLIOGRAPHIE.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

"Application du dihydroborane en chimie organique".

Vu et approuvé:

Paris, le 16 décembre 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu
et Permis d'imprimer:

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

"Application du dihydrodonone en chimie organique"

Vu et approuvé,

Paris, le 15 décembre 1967

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu
et Permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie
de Paris,

Jean ROCHE